

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**La transmisión y persistencia de anticuerpos maternos
específicos contra la larva de la *Taenia solium* en crías
provenientes de cerdas inmunizadas con la vacuna tsol18**

ii

TESIS

Para optar el título profesional de Médico Veterinario

AUTOR

Alberto Daniel Halire Huaman

ASESOR

César Gavidia Chucán

Lima – Perú

2014

Dedicatoria

A los docentes que me prestaron su ayuda para redactar y concluir esta tesis, a ellos les debo su apoyo incondicional.

A todos mis amigos por el apoyo emocional durante el tiempo en que escribía esta tesis.

A mi familia que siempre me ha brindado su apoyo durante todo este tiempo.

A los docentes de la UNMSM-FMV que siguieron enseñándome y depositando su confianza en mí.

Agradecimiento

A la MV. PhD Sofía Arriola y al Mv. PhD. Armando González Por brindarme la gran oportunidad de poder desarrollar esta tesis.

A Juan, Elton y Julia por el apoyo durante todo el trabajo de la parte experimental de la tesis, muchas gracias.

A mi madre por el apoyo incondicional durante todo este tiempo, todo lo que he logrado hasta el día de hoy es gracias a ti.

Al MV. PhD. Cesar Gavidia por su generosidad, capacidad y experiencia en la investigación en la ayuda para la concreción de este trabajo.

Al Mg. Luis Gomez por brindarme el apoyo con los materiales para redactar esta tesis, muchas gracias.

INDICE

LISTA DE ABREVIATURAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
LISTA DE CUADROS.....	v
RESUMEN.....	vi
ABSTRAC.....	vii
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION BIBLIOGRÁFICA	
2.1 Generalidades.....	3
2.2 Características.....	5
2.3 Ciclo Biológico.....	7
2.4 Inmunología de la <i>Taenia solium</i>	9
2.5 Inmunología del cerdo.....	12
2.6 Epidemiología.....	13
2.7 Diagnóstico.....	16
2.7.1 Diagnóstico de cisticercosis en cerdos	
2.7.1.1 Diagnóstico <i>post mortem</i>	16
2.7.1.2 Diagnóstico <i>ante mortem</i>	17
2.7.2 Diagnóstico de cisticercosis en Humanos.....	18
2.7.3 Diagnóstico de teniasis.....	20
2.8 Importancia en la salud pública.....	20
2.9 Control y Prevención de la Teniasis y la Cisticercosis	
2.9.1 Uso de antihelmínticos en humanos.....	22
2.9.2 Uso de antihelmínticos en cerdos.....	23
2.9.3 Salud pública.....	24
2.9.4 Educación Pública.....	25
2.9.5 La Vacunación.....	25
III. MATERIALES Y METODOS	
3.1 Lugar de estudio.....	31
3.2 Animales.....	31
3.3 Metodología	

3.3.1	Inmunización de los cerdos.....	32
3.3.2	Recolección de muestra.....	34
3.3.3	Prueba serológica ELISA Indirecta.....	35
3.3.4	Procedimiento de la ELISA Indirecta.....	35
3.3.5	El Porcentaje de Positividad y El punto de corte.....	37
3.3.6	Obtención de la vacuna Tsol18IIL.....	37
3.3.7	Análisis de datos.....	37
IV.	RESULTADOS.....	39
V.	DISCUSIÓN.....	45
VI.	CONCLUSIONES.....	50
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
VIII.	APÉNDICE	
8.1	Apéndice 1: PP de cada cerdo.....	60
8.2	Apéndice 2: Prueba de Shapiro-wilk	61
8.3	Apéndice 3: La prueba Kruskal-Wallis en la semana 2.....	62
8.4	Apéndice 4: La prueba Kruskal-Wallis en la semana 8.....	63
8.5	Apéndice 5: La prueba Kruskal-Wallis en la semana 12.....	64
8.6	Apéndice 6: La prueba Kruskal-Wallis en la semana 16.....	65
8.7	Apéndice 7: La prueba Kruskal-Wallis en la semana 20.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS

NCC:	Neurocisticercosis
UNMSM:	Universidad Nacional Mayor de San Marcos
IIL:	Siglas en inglés de Indian Immunologicals Limited
LMVP:	Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva
ELISA:	Siglas en inglés de Enzyme linked immunosorbent assay (Ensayo por Inmuno absorción Ligado a la Enzimas)
EITB:	Siglas en inglés Electro Immuno Transfer blot (Electro Inmuno transferencia-Blot
GALVmed:	Sigla en inglés de Global Alliance for Livestock Veterinary Medicines (Alianza Global para Medicamentos en la Ganadería Veterinaria).
PP:	Porcentaje de Positividad
CI:	Cerdas Inmunizadas
CNI:	Cerdas no Inmunizadas
DO:	Densidad Óptica
HO:	Hipótesis Nula
HA:	Hipótesis Alterna
LCR:	Líquido Cefaloraquídeo
<i>T. solium</i> :	<i>Taenia solium</i>
IL:	Interleucina
Ig:	Inmunoglobulina
NK:	Natural Killer
IFN- γ :	Interferon Gamma
TC:	Tomografía Computarizada
RM:	Resonancia Magnética
<i>E. coli</i> :	<i>Escherichia coli</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura N° 1:	Partes de un escólex de <i>Taenia solium</i> adulto.....	5
Figura N° 2:	Escólex y estróbilos de <i>Taenia solium</i> adulto.....	6
Figura N° 3:	Ciclo de vida de la <i>Taenia solium</i>	8
Figura N° 4:	Cisticercos vesiculares en lengua de cerdo.....	17
Figura N° 5:	Cerebro con múltiples cisticercos.....	19
Figura N° 6:	Cisticercos parenquimatosos en diversos estadios evolutivos.....	21
Figura N° 7:	Lechones recibiendo la vacuna Tsol18 IIL en los músculos de la tabla del cuello.....	34
Figura N° 8:	Toma de muestra de sangre en los lechones.....	35
Figura N°9.	Representación del comportamiento de las medianas de la PP de cada grupo de tratamiento de acuerdo a la semana de la toma de muestra.....	41

LISTA DE CUADROS

Cuadro N° 1.	Programa de Inmunización de los cerdos con la Vacuna Tsol18 IIL.....	33
Cuadro N° 2.	Evaluación del % positividad de los títulos de anticuerpos (Anti-Tsol18) en los grupos de cerdos procedentes de cerdas inmunizadas.....	42
Cuadro N° 3.	Evaluación del cambio de positivo/negativo del nivel de anti-Tsol18 en los títulos de anticuerpos de todos los grupos de cerdos.....	43
Cuadro N° 4.	Evaluación del cambio de positivo/negativo del nivel de Anti-Tsol18 en los títulos de anticuerpos de los grupos procedentes de cerdas inmunizadas.....	44

RESUMEN

El objetivo del estudio fue determinar la transmisión de anticuerpos maternos de cerdas inmunizadas con el antígeno Tso118 expresado en la *pichia pastoris* (vacuna Tso118 IIL) hacia sus lechones y la persistencia de estos anticuerpos contra la oncosfera de la *Taenia solium*. Para este trabajo se usaron 50 lechones que fueron divididos en 4 grupos. Los grupos 1, 2 y 3 con 11, 12 y 11 lechones que procedían de cerdas inmunizadas con dos dosis de la vacuna Tso118 IIL a las 6 y 2 semanas antes del parto. El grupo 4 con 16 lechones que procedían de cerdas no inmunizadas. La inmunización de las crías fue con la misma vacuna que recibió la madre. El grupo 1 fue vacunado a los 8 y 12 semanas, el grupo 2 fue vacunado a los 12 y 16 semanas, el grupo 3 y grupo 4 fueron los controles. Las muestras de sangre fueron tomadas a las 2, 8, 12, 16 y 20 semanas de edad de la cual se obtuvieron los sueros que fueron evaluados con la prueba de ELISA indirecta estandarizada con el antígeno Tso118. El valor de la densidad óptica (DO) representan los niveles de anti-Tso118 en el suero de los cerdos, que posteriormente este valor fue expresado en función al porcentaje de positividad para evaluar los niveles de anticuerpos. Al inicio del estudio, Los lechones procedentes de cerdas inmunizadas poseen niveles altos de anticuerpos maternos IgG, cuando pasaron las semanas, estos anticuerpos descendieron debido a los procesos metabólicos normales del animal, se comparó la diferencia en el incremento en los niveles de anticuerpos entre el grupo 1 y 2, obteniendo como resultado que entre la semana 8 y 12 permanecen los anticuerpos maternos, pero en niveles bajos con la capacidad de interferir en el efecto de la vacuna con el antígeno Tso118.

Palabras claves: *Taenia solium*, *Cysticercus cellulosae*, Tso118 IIL, inmunidad materna, Anticuerpos Maternos, ELISA.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine maternal antibodies transmission from Tsol18 immunized with antigen expressed in *Pichia pastoris* (vaccine Tsol18 IIL) sows to piglets and the persistence of these antibodies in piglets against oncosphere of *Taenia solium*. To do this study it was necessary to use fifty piglets with two doses of the vaccine Tsol18 IIL at 6 and 2 weeks before birth, which were divided into 4 groups. Group 1, 2 and 3 containing 11, 12 and 11 piglets respectively came from vaccinated sows. Group 4 containing 16 piglets came from unvaccinated sows. The first group was vaccinated at 8 and 12 weeks old, the group 2 at 12 and 16 weeks and group 3 and 4 were control groups. Blood samples were taken at 2, 8, 12, 16 and 20 weeks old. Were obtained serums that were assessed with standardized indirect ELISA with antigen Tsol18. The results were expressed according to the percentage of positive individuals, The value of antibody titers were expressed according to the percentage of positive which was obtained from the optical density (OD) of each serum sample between the OD of a standard positive control. At the beginning of the study, piglets from immunized sows had high levels of maternal antibodies Ig G. As the weeks passed, these antibodies were decreasing due to normal metabolic process. comparing the difference in the increase in antibody levels between groups 1 and 2, the result being that between week 8 and 12 remain maternal antibodies, but at low levels, with the ability to interfere with the effect of vaccination with antigen Tsol18.

Keywords: *Taenia solium*, *Cysticercus cellulosae*, Tsol 18 IIL, maternal immunity, maternal antibodies, ELISA.

I. INTRODUCCION

La cisticercosis es una enfermedad zoonótica producida por el *Cysticercus cellulosae*, que es la forma larvaria de la *Taenia solium* (Kassai, 1998). Para el hombre es una enfermedad de gran importancia debido a las manifestaciones clínicas y por la pérdida económica que le genera en el tratamiento. Los cerdos infectados con cisticercos no presentan signos clínicos, sólo pierde el valor económico de su carne (Engels *et al.*, 2003), siendo de importancia como un foco de infección de la *T. solium* adulta hacia el hombre.

La cisticercosis es una infección que afecta a los cerdos y humanos; estos últimos actúan como hospederos intermediarios cuando ingieren huevos de la *T. solium*. Las oncosferas se liberan de los huevos a nivel del intestino y viajan por la vía hematológica (Acha y Szyfres, 2003). Las larvas se enquistan en los músculos, así como en otros tejidos. La ingestión de los huevos por parte de los seres humanos ocasiona que los cisticercos se desarrollen en los diversos tejidos del cuerpo. Los quistes pueden desarrollarse en los músculos y otros tejidos provocando secuelas graves si se localizan en el cerebro, lo que resulta la enfermedad de la neurocisticercosis (Larralde y De aluja, 2006).

La cisticercosis tiene más frecuencia en las zonas rurales debido a la falta de servicio sanitario, falta de educación, uso de agua contaminada, fecalismo al aire libre, crianza de cerdos libres y migración de personas portadoras del parásito adulto hacia las zonas urbanas convirtiéndose como una gran amenaza de infección (Sciutto *et al.*, 2000). Este parásito es de gran importancia

médica en humanos, por lo que existe un interés muy considerable en el desarrollo de una vacuna que pueda controlar adecuadamente la transmisión del parásito en los cerdos (Lightowlers, 1999). Se ha centrado en el desarrollo de una vacuna con la finalidad de prevenir la cisticercosis en los cerdos; con esta acción se rompería el ciclo biológico y la fuente de la teniasis, con la reducción o eliminación de la cisticercosis en humanos

El antígeno Tsol 18 proviene del huevo de la *T. solium* (oncósferas) que ha sido identificado por el profesor Marshall Lightowlers de la Universidad de Melbourne; posteriormente fue expresado como una molécula recombinante en la *E. coli*, con el objetivo de producir este antígeno específico. La función de la vacuna con el antígeno Tsol 18 es evitar que la larva del parásito penetre la mucosa intestinal y pueda establecerse en el músculo esquelético del hospedero infectado. La efectividad de la vacuna Tsol18 ha sido comprobado al infectar a los cerdos en forma experimental en investigaciones realizadas en México, Honduras, Perú, Ecuador y Camerún (Flisser *et al.*, 2004; Lightowlers, 2006, 2010; Gauci *et al.*, 2006).

La Universidad de Melbourne y la India inmunológicos Ltd. (IIL) han desarrollado la vacuna con el antígeno recombinante Tsol18 expresado en la *Pichia pastoris* (vacuna Tsol18 IIL) que es para proteger a los cerdos de la larva de la *T. solium*. El objetivo principal de este trabajo fue determinar la inducción de la producción de la IgG contra la proteína Tsol18 de la oncósfera de la *Taenia solium* en cerdas gestantes inmunizadas con la vacuna Tsol18IIL, y que estos anticuerpos sean transferidos a sus crías para evaluar el tiempo de persistencia de los anticuerpos maternos en sus sueros, al inmunizarlos con la misma vacuna que recibió la madre. La evaluación de los niveles de anticuerpos en diferentes semanas fue realizada mediante la prueba de la ELISA Indirecta estandarizada con el antígeno Tsol18. Los resultados de este estudio permitirán establecer pautas sobre el manejo de las inmunizaciones en los cerdos jóvenes de diferentes zonas que están expuestos a la larva de la *T. solium*, obteniéndose un beneficio económico por la reducción en gastos en tratamientos y pérdida de valor del cerdo, además de un manejo simple en la vacunación en los cerdos.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Generalidades

La *T. solium* es un parásito que, afecta tanto al hombre como al cerdo, pertenece al género de las *Taenia* un miembro de la familia Taeniidae que están considerados como los cestodos más evolucionados del orden Cyclophyllidea. Los parásitos adultos que pertenecen a esta familia son parásitos exclusivos de los carnívoros, pero la *T. solium* se caracteriza por ser una de las tres especies que afecta al hombre que necesita a un hospedador intermediario, que es un mamífero herbívoro sea depredado por el hospedador definitivo (Hiepe, 2011).

La larva de la *T. solium* causa la enfermedad grave de la neurocisticercosis (NCC) a las personas. Además de eso le genera pérdida de valor económicas cuando infecta a los cerdos, es un problema grave en países que se encuentran en vía de desarrollo (Wang *et al.*, 2002). El cisticerco es la forma larvaria de la *T. solium*, que es un parásito que representa un gran riesgo en la salud del hombre (Kassai, 1998; Bowman, 2004). El cerdo es el principal hospedador intermediario de la forma larvaria del parásito, mientras que el hombre puede hospedar tanto la forma adulta como la forma larvaria. Cuando el hombre está infectado por la forma larvaria, le produce graves manifestaciones patológicas, pero es muy difícil que manifieste síntomas cuando está infectado con la forma adulta de la *T. solium* (Hiepe, 2011).

El hombre es el único hospedador definitivo de la *T. solium* en la forma adulta; se infecta al ingerir carne mal cocida de cerdo impregnada con los cisticercos. El hombre se vuelve hospedador

intermediario al ingerir los huevos del parásito, que pueden estar presentes en los alimentos contaminados (verduras frescas regadas o lavado con aguas servidas) o cuando el propio individuo infectado con la tenia adulta se contamina sus manos con su propia materia fecal y no se lava las manos al ingerir sus alimentos (Cordero del Campillo e Hidalgo-Argüello, 1999). Mencionan que aparte del cerdo como hospedador intermediario, también puede ser el jabalí, el mono y excepcionalmente el perro u otras especies (Kassai, 1998).

En los últimos años, la importancia de la *T. solium* ha disminuido en los países que han logrado un gran desarrollo tecnológico, debido a su implementación en la crianza porcina de forma intensiva y tecnificada, además de una adecuada inspección sanitaria de la carcasa de los cerdos. Pero, en la actualidad el parásito constituye un gran problema de las zonas rurales en los países que están en vía de desarrollo, tales como África, Asia y Latinoamérica (Cordero del Campillo e Hidalgo-Argüello, 1999).

En un principio a causa del desconocimiento de la relación de la tenia con los cisticercos, que es la forma larvaria de la *T. solium*, fue descrita con un nombre propio científico llamado *Cysticercus cellulosae*, como si se trataran de dos especies diferentes (Acha y Szyfres, 2003). La relación de la tenia con el cisticerco fue descubierta por Küchenmeister en el año 1855, cuando describió el ciclo biológico de la *T. solium* en su trabajo de investigación. Su trabajo consistió en la administración quistes de cisticercos en los alimentos de un convicto que estaba condenado a muerte, posterior a la ejecución se examinaron sus intestinos y se encontró una sola tenia unida firmemente con su probóscide en la mucosa duodenal del condenado (Grove, 1990), con lo que pudo corroborar el ciclo biológico de la *T. solium*.

En el Perú, los primeros indicios de personas afectadas con la larva de la *T. solium*, como un primer caso de NCC, que fue publicado por Hipólito Unanue en el año 1792 en el Mercurio Peruano, donde describe la presencia de la *T. solium* en un soldado fallecido por una crisis epiléptica y los síntomas que finalmente causaron su pronto deceso fueron atribuidos a la presencia de las larvas del parásito (cisticercos) en el sistema nervioso por autoinfección (Deza, 1987).

La *T. solium* llamada también solitaria, se creía que no causaba ningún daño a las personas, pero en la actualidad es una idea errónea debido a que los portadores del parásito son una fuente

potencial de infección para el cerdo y el hombre que viven a su alrededor, inclusive para ellos mismos (Murrell *et al.*, 2005). El hombre es el principal responsable de la dispersión del parásito que es en forma de huevos (proglótidos grávidos) de la *T. solium*, al practicar la defecación al aire libre ya que los proglótidos son infectantes desde que son liberados del intestino del hombre (Sarti y Rajshekhar, 2003); Los cerdos que están libres y tienen el hábito de la coprofagia, se infectan al ingerir las materia fecal con huevos, pero rara vez llegan a manifestar algún signo de enfermedad por la parasitosis (González *et al.*, 2002).

2.2 Características

La *T. solium* se localiza en el intestino del hombre, su longitud es de 8-10 metros; su cabeza o escólex tiene el tamaño de un alfiler con cuatro ventosas y un róstelo armado que sirve para que pueda fijarse en el intestino del hombre. El róstelo está armado con 22-36 ganchos grandes que miden de 140-200 μm y los pequeños de 90-160 μm (Hiepe, 2011). En el cuello prolifera una larga cadena de proglótidos alcanzando la cantidad de un millar y en conjunto se le llama estróbilo que en apariencia tiene la forma de una cinta.

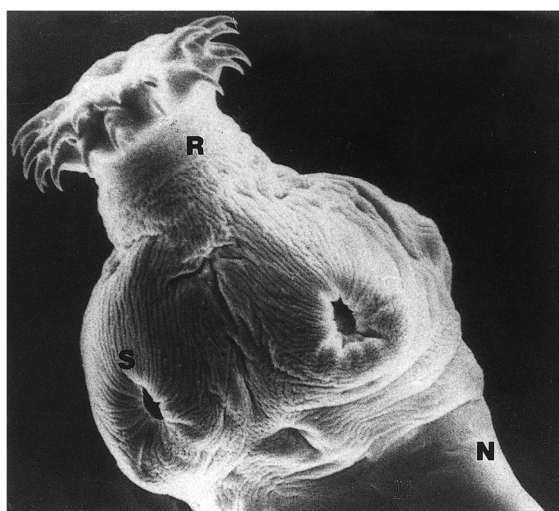


Figura N°1. Micrografía electrónica de barrido del escólex de la *T. solium*. R, róstelo; S, ventosa, N, cuello (Tomado de Sciutto *et al.*, 2000).

Los proglótidos tienen diferentes etapas de desarrollo: La parte proximal son proglótidos inmaduros, los distales son maduros y los proglótidos grávidos son los huevos desarrollados. Los

segmentos maduros son hermafroditas que contienen varios cientos de testículos, conectados por un conductillo de esperma fina que se anastomosa en el poro genital. El sistema sexual femenino es un ovario bilobulado, conectado a un oviducto. La vagina es un tubo ligeramente sinuoso que desemboca en el atrio genital al oviducto. El oviducto es el lugar donde se da la fertilización, se transforma en el saco central o de útero, una vez que las gónadas y sus conductos han alcanzado la madurez, los Proglótidos grávidos se parecen a unos sacos llenos de huevos que poseen entre 50.000 y 80.000 huevos en cada proglótido. El útero desarrolla de 7 a 11 ramas laterales para contener a los huevos, que es una característica especial de la *T. solium* que se diferencia de las demás especies de tenias (Murrell *et al.*, 2005). Un proglótido maduro puede llegar a medir 1 cm de ancho, 1-2 cm de largo y 2-3 mm de espesor (White, 2000), tienen poca movilidad y llegan a desprenderse del estróbilo en grupos de 5 a 6 proglótidos de forma intermitente junto con las heces (Acha y Szyfres, 2003).

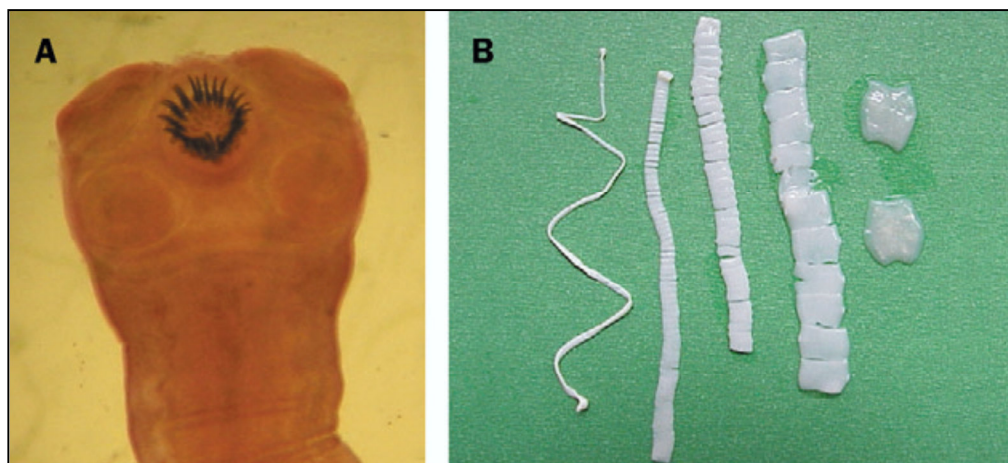


Figura N°2. Escólex (A) y estróbilos (B) de la tenia adulta (Tomado de García *et al.*, 2003).

La cara interna de la zona ecuatorial del huevo de la *T. solium* presenta una formación densa, opaca, esférica, blanquecina; que representa el escólex invaginado fibrilar. En el interior del huevo contiene a la larva del parásito, que tiene la capacidad de afectar al hombre o al cerdo. El hospedero al infectarse con los huevos del parásito, este se desarrolla en los músculos y órganos formando una vesícula (cisticerco) de 6-20 x 5-10 mm en forma de un esferoide que siguen el mismo sentido de las fibras musculares. En su interior contiene un líquido de aspecto acuoso, forma a su alrededor una cutícula con una capa parenquimatosa con algunas fibrillas musculares y una red fibrilar (Cordero del Campillo e Hidalgo-Argüello, 1999). El escólex posee 4 ventosas y 2

hileras de ganchos de diferentes tamaños y llega a medir entre 1- 2mm que sirven para adherirse al hospedero; que desarrollado en un cisticerco es semejante al de una tenia adulta (White, 2000).

La tenia tiene la capacidad de infectar al hospedero intermediario a las 9-10 semanas, posterior a la ingestión de los huevos; la tenia adulta se desarrolla en el hospedero definitivo y comienza a liberar los proglótidos grávidos infectantes desde los 5 - 12 semanas posterior a la ingestión de los cisticercos (Barriga, 2002).

2.3 Ciclo de vida

En el ciclo de vida de la *T. solium* posee dos formas de infección, una es la forma adulta que habita en el intestino delgado del hombre como único hospedero definitivo y la forma larvaria (*Cysticercus cellulosae*) que se desarrolla en el músculo y en el cerebro del hospedero intermediario. El hombre accidentalmente se infecta con la forma larvaria del parásito (Acha y Szyfres, 2003; Quiroz, 2005; Flisser *et al.*, 2006).

El hombre se contagia al ingerir los cisticercos vivos presentes en la carne cruda o insuficientemente cocida derivados de cerdos infectados. En el intestino los cisticercos son activados por las enzimas gástricas e intestinales; así como las sales biliares, esto induce la evaginación del escólex y se ancle en la mucosa intestinal. Una vez anclado, este crece y forma un hilera de proglótidos (Larralde y De Aluja 2006).

Una tenia adulta desarrollada libera sus proglótidos grávidos aproximadamente a las 5 - 12 semanas después de la infección con los cisticercos. Los proglótidos grávidos se liberan junto con las heces de dos a tres veces por semana (Murrel *et al.*, 2005). En algunas ocasiones los proglótidos grávidos pueden llegar a abandonar el intestino del hombre por sí mismo al salir del ano separado de las heces del hospedero (Hiepe, 2011).

El hombre con la práctica de la defecación al medio ambiente más la crianza libre del cerdo, facilita su accesibilidad del cerdo hacia las heces. Al ingerir las heces con un gran número de huevos origina la infección masiva en el cerdo. Las oncósferas del huevo llamado también el embrión hexacanto, son activadas en el estómago e intestino por las enzimas proteolíticas. Los

bloques de queratina de la membrana que compone en el embrióforo se disuelven por la acción de las enzimas, quedando las oncósferas libre de los huevos y de su membrana. Con ayuda de los ganchos embrionales tienen movilidad y atraviesan la mucosa intestinal. En el transcurso de 24 a 72 horas, se distribuyen por el torrente circulatorio o la linfa. Cuando llegan al tejido preferencial el embrión se desarrolla a un cisticerco (Acha y Szyfres, 2003; García *et al.*, 2003; Quiroz, 2005; Larralde y De Aluja, 2006).

La larva infecta al huésped intermediario posterior a las 10 semanas de haber ingeridos los huevos (Kassai, 1998; Acha y Szyfres, 2003). Se desarrolla comúnmente, en la musculatura estriada y el corazón; y también invaden otros órganos importantes (hígado, pulmones, riñones, ojo, ganglios linfáticos, etc.), el tejido subcutáneo y en el sistema nervioso central (SNC). Después que los cisticercos mueren, se transforman en nódulos sólidos y blanquecinos, con un contenido caseoso llegando a calcificarse (Kassai, 1998).

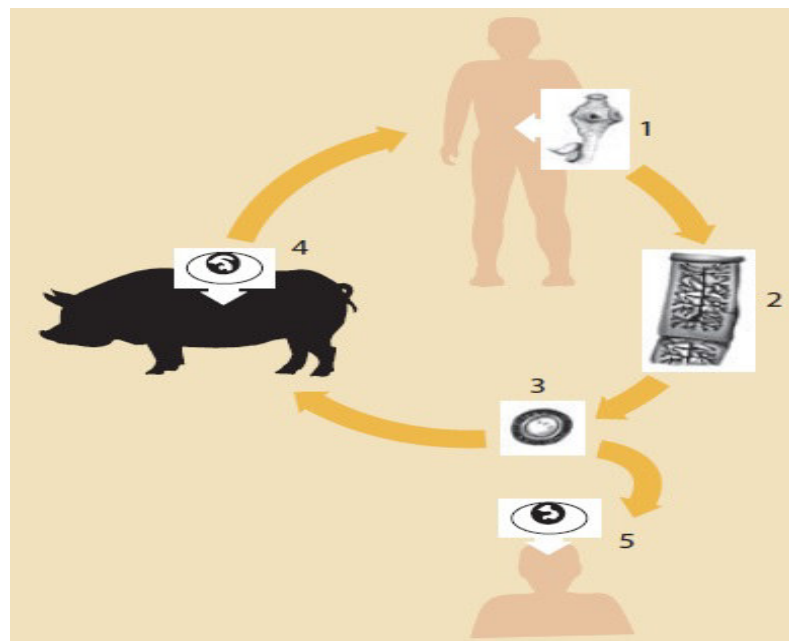


Figura N°3. Ciclo de vida de la *T. solium*. (1) El parásito en su estado adulto se encuentra en intestino del adulto en el intestino humano, (2) La tenia produce miles de huevos dentro de los proglótidos y son expulsados junto con la materia fecal, (3) el hombre libera los huevos del parásito junto con la materia fecal, (4) el cerdo se infecta al ingerir materia fecal junto con los huevos y desarrolla los cisticercos en los músculos y órganos. El hombre completa el ciclo al consumir carne de cerdo insuficientemente cocida infectada con cisticercos, (5) el hombre también se puede infectar

con los huevos del parásito y desarrollar cisticerco en sus músculos y órganos (Tomado de Larralde y De Aluja, 2006).

2.4 La Inmunología de la *Taenia solium*

La larva de la *T. solium* para completar su ciclo biológico debe sobrevivir en el músculo u órgano del huésped durante meses o años; para lograr este objetivo han desarrollado un mecanismo de defensa que evade la respuesta inmunológica del huésped (White, 1997). El parásito posee un mecanismo complejo que tiene la función de evadir las inmunoglobulinas del huésped que son la inmunidad concomitante, el mimetismo molecular y la supresión o la desviación de las respuestas del huésped (Murrel *et al.*, 2005). Es poco probable que los cisticercos viables causen sintomatología al hospedero; el desarrollo de los signos o síntomas en el hospedero sólo se da cuando el cisticerco pierde la capacidad de controlar las respuestas inflamatorias e inmunitarias del hospedero (White, 2000).

El cisticerco que está establecido en el músculo u órgano mediante la evasión activa y supresión puede evadir la respuesta inmune del hospedero sin causar síntomas o signos de infección. Está rodeado por poca o ninguna inflamación que le permite sobrevivir dentro del huésped durante varios años sin provocar una reacción inflamatoria, pero con una inflamación mediada por el sistema inmunológico del huésped causado por la degeneración de uno o más quistes, se presenta como una enfermedad sintomática causada porque el parásito comienza a morir de forma natural, por el tratamiento con antihelmínticos o por la inmunización. En el lugar de la degeneración se desarrolla una respuesta inflamatoria granulomatosa tanto en infecciones humanas como en las porcinas (Murrel *et al.*, 2005).

La inmunidad contra el estadio larvario de tenia está mediado por los anticuerpos y complemento del hospedero (Molinari *et al.*, 1993). Para que el cisticerco pueda establecerse en el hospedero, evade la destrucción mediada por el complemento, secretando un inhibidor de las proteinasas de la serina llamado Taeniaestatin que tiene la función de inhibir la activación clásica y alterna del complemento, interfiere en la quimiotaxis de los leucocitos inhibiendo la producción de las citoquinas (Suquet *et al.*, 1984). Toda la superficie del parásito está cubierta por polisacáridos sulfatados que se desprende y activa el complemento lejos de la pared del quiste. Se ha determinado

que la paramiosina del parásito inhibe C1q que activa la vía clásica del complemento (Laclette *et al.*, 1992). Los parásitos elaboran prostaglandinas y moléculas de bajo peso molecular que tienen la función de disminuir la inflamación que origina que el huésped cambie la producción de citoquinas hacia las dos moléculas T- helper. Los cisticercos secretan proteasas que pueden degradar la IL-2 y las inmunoglobulinas. A la vez, los cisticercos viables estimulan la producción de inmunoglobulinas, que en vez de dañar al parásito, este lo utiliza las moléculas de inmunoglobulinas como fuente de aminoácidos (White, 1997; 2000). En el musculo del hospedero ocurre una reacción inflamatoria granulomatosa y con muchos cisticercos destruidos en grados variables, mientras que en el tejido nervioso se mantiene la forma vesicular con una reacción inflamatoria leve (Sarti, 1997).

En el análisis del lugar histológico del lugar de anclaje de la *T. solium* adulto presenta una intensa reacción inflamatoria que rodea al escólex que ha podido ser detectado en el suero los anticuerpos específicos y antígenos del parásito adulto (Murrell *et al.*, 2005). Los cisticercos que se alojan en los músculos del hospedero, poseen una pared con una superficie delgada que está rodeada por una capa cuticular con eosinófilos, linfocitos, células plasmáticas y la fibra muscular; pero, cuando la larva muere se observa formaciones de células gigantes de cuerpo extraño con fibroblasto y necrosis con encapsulamiento, que puede llegar finalmente a calcificarse. Cuando el cisticerco envejece, la pared quística se engruesa y la capa parenquimatosa toma aspecto hialino (Cordero del Campillo e Hidalgo-Argüello, 1999). Los pocos Parásitos que están viables están rodeados por una reacción inflamación que consta de áreas discretas de linfocitos y algunos eosinófilos (White, 2000).

Cuando la neurocisticercosis (NCC) es benigna, el cisticerco está en forma de una cicatriz; a veces puede estar sustituido por la formación de una necrosis caseosa con depósitos de sales de calcio. En estas lesiones presenta una escasa inflamación infiltrada, principalmente con células mononucleares y linfocitos que están distribuidas en delgadas hebras de fibra de tejido alrededor del cisticerco. Cuando la respuesta inflamatoria en el cerebro es exagerada, algunas de estas respuestas inflamatorias se presentan con numerosos células plasmáticas, macrófagos, células gigantes multinucleadas y algunos eosinófilos; y además presentan edema, áreas necróticas, gliosis y la proliferación del tejido conjuntivo (Sciutto *et al.*, 2000).

En casos reportados en los EEUU en las autopsias de los cerebros, revelan que la respuesta inmune en autopsias cerebrales que se caracterizan por la respuesta de anticuerpos (IgM), la respuesta NK, infiltrado con abundantes macrófagos, granulocitos y las linfocitos T, además de la Th-1 de citocinas de tipo 1 (IL-2, IL-12 e IFN- γ) es detectable la respuesta inflamatoria en la biopsia. Cuando el cisticerco empieza a degenerarse, se vuelve una vesícula líquida y turbia; más tarde, es coloidal y las larvas comienzan a ser rodeados por una reacción inflamatoria caracterizado por la presencia de neutrófilos, linfocitos y numerosos eosinófilos. La Inflamación es continua, las células penetran la vesícula a través del tegumento, se hinchan y también invaden la entrada canal. En la etapa posterior se forman células epiteloide y células gigantes, en el exudado pueden aparecer los ganchos de escólex. Los contenidos de las vesículas se vuelven caseosos y las estructuras parasitarias interiores comienzan a desintegrarse. En esta etapa, la reacción inflamatoria circundante es severa y las células que predominan son los linfocitos, macrófagos, células gigantes y eosinófilos. Por último, el exudado caseoso puede contener áreas calcificadas. En los cerdos la calcificación de los cisticercos no es muy común. Histológicamente, en la etapa final se puede observar en la muestra un tejido cicatricial y fibrótico con infiltración calcárea en ocasión débil (Sciutto *et al.*, 2000).

En las manifestaciones clínicas de un paciente con NCC dependen mucho en la ubicación y el número de metacéstodos, además de la respuesta del huésped. Si se localizan en los músculos o ciertas partes del cerebro donde no hay peligro, la infección puede ser asintomática; por lo general hay un período asintomático de varios años antes de la aparición de los síntomas. En paciente con sintomatología de NCC está asociada a una respuesta granulomatosa, esto es debido que los metacéstodos no tienen la capacidad de controlar la respuesta inmunológica del huésped. La evidencia preliminar sugiere que la respuesta granulomatosa es mediada a través de citoquinas del T helper 1 tales como IL-2 e IFN- γ (White, 1997). Normalmente un quiste que se ubica en el cerebro, no causa daño a la barrera de sangre en la mayoría de los casos, debido que es una forma de sobrevivencia dentro del hospedero llamados "lugares inmunológicamente privilegiados" como es en el caso del ojo o en el sistema nervioso central (Ccama, 2001).

Los Cisticercos por su mecanismo de defensa evaden el sistema inmunológico del huésped; pero cuando pierde su capacidad de inhibir la inmunidad del huésped, son degenerados en cuatro diferentes etapas. La etapa vesicular es la primera etapa cuando el cisticerco que está viable genera una mínima reacción inflamatoria; entonces la pared del quiste es rodeada e infiltrado por las

células inflamatorias que están principalmente compuestas por células mononucleares. Los eosinófilos son las primeras células de defensa que atacan al parásito (Murrel *et al.*, 2005). La segunda es la etapa coloidal donde las células inflamatorias entran al líquido del quiste; esta respuesta inflamatoria se asocia con la elaboración de citoquinas de tipo 1, tales como IL-2, IL-12 y interferón- γ . La tercera es el estadio Granular-nodular, en esta etapa se llega por el progreso de la respuesta del sistema inmunológico del huésped. Existe la formación fibrosis que abarca al cisticerco que ocasiona el colapso del quiste. La cuarta es la etapa del estadio de calcificación, esto se da con el tiempo cuando el parásito origina una fibrosis progresiva llegando a calcificarse completamente (White, 2000), presentando una cicatriz en el músculo del hospedero.

2.5 Inmunología del cerdo

Los cerdos infectados con cisticercosis producen Ig como un medio de defensa contra el parásito siendo más evidente después de una infección. La principal Ig que está presente en las cerdas gestantes con cisticercosis y en sus crías es la IgG, que predomina en el suero (88%) y en el calostro (80%) a diferencia de la IgM e IgA que es de bajo nivel. Los anticuerpos anti-cisticerco no están presentes en el suero de los lechones hasta después de haber recibido el calostro, que es el único medio para la transferencia de anticuerpos maternos (González *et al.*, 1999), por lo que la IgG también puede ser detectado en el suero, líquido cefalorraquídeo (LCR) y la saliva de pacientes con problemas de neurocisticercosis (Ccama, 2001; Murrel *et al.*, 2005), que puede ser utilizado como inmunoglobulinas específicas contra la larva de la *T. solium*.

Los cerdos infectados con cisticercos, son inmunes a una reinfección por oncósferas. Sin embargo, la respuesta en la producción de anticuerpos no impide la invasión de la larva, esta inmunidad en el hospedero se produce tardíamente después que las oncósferas evaden la respuesta inmune y se establecen en el músculo del hospedero como un metacestodo. Los anticuerpos desarrollados contra las oncósferas en el hospedero infectado pueden estar junto con los metacestodo sin que pueda afectarlos (Ccama, 2001; White, 1997). En otras investigaciones se ha podido comprobar que en otras especies de tenias (*T. taeniaeformis*, *T. ovis* y *T. hydatigena*), los anticuerpos y complementos del hospedero afectan únicamente a las oncósferas; por lo que, si la respuesta inmune del hospedero es más lento que el mecanismo evasivo del parásito, no será capaz de destruir al metacestodo que está establecido (Ccama, 2001). Entonces la función que tiene los anticuerpos es destruir sólo a las larvas en formación y no cuando está en la forma de un

metacestodo, pero estos pueden perjudicados gravemente cuando lleguen a desarrollarse a una tenía adulta (Sciutto *et al.*, 2000; White, 1997). La correlación entre la presencia de anticuerpos y con la intensidad de infección de los cisticercos, está en la viabilidad del parásito y la presencia de los anticuerpos cuando los parásitos están vivos o muertos, pero rara vez cuando los cisticercos están calcificados (Murrel *et al.*, 2005).

En México se realizó un estudio con lechones de diferentes edades que procedían de zonas endémicas de cisticercosis, el resultado de su trabajo fue que los lechones están protegidos contra la cisticercosis por los anticuerpos maternos hasta las 7 semanas de vida, posterior a estos días los lechones fueron susceptibles a una infección con larva de la *T. solium* (De Aluja *et al.*, 1996).

Los anticuerpos maternos de la cerda se transfiere hacia sus lechones por medio del calostro (Tizard, 2009). Al analizar el calostro y el suero de cerdas gestantes infectadas con cisticercosis, se corroboró la presencia de anticuerpos contra cisticerco en niveles altos, tanto en el calostro como en el suero. Está demostrado que los lechones presentan anticuerpos contra cisticerco después de recibir el calostro. observándose que los niveles de anticuerpos en los sueros de los lechones resultaba ser similares a los niveles encontrados en el calostro, manteniéndose en niveles altos hasta las primeras 8 a 12 semanas de vida (González *et al.*, 1999); por lo que se toma como un punto importante la vacunación de la cerdas durante la gestación como un modo de prevención y tratar de reducir el riesgo de infección en los lechones contra la cisticercosis por tener aún su sistema inmunológico en un desarrollo incompleto (Huertas *et al.*, 2002), además se puede resaltar la realización de un programa de vacunación en lechones de zonas endémicas con cisticercosis donde el efecto de la vacuna no sea afectado por los anticuerpos maternos contra la cisticercosis.

2.6 Epidemiología

La cisticercosis en cerdos y humanos es más frecuente en los países que están en vía de desarrollo, principalmente en las zonas de extrema pobreza. En las zonas endémicas los hogares no poseen las condiciones sanitarias adecuadas, las personas tienen poca higiene, los cerdos son criados libremente, el consumo de carne de cerdo mal cocida e infectada, la práctica común del fecalismo al medio ambiente, el bajo nivel de educación de la población y la convivencia con

portadores de la tenia adulta (Sciutto *et al.*, 2000), siendo estos los factores que ayudan a que el parásito se pueda proliferar indiscriminadamente.

La erradicación de la *T. solium* en Europa se debió a varios factores que son: la mejora en la sanidad pública, la adecuada educación de la población, las inspecciones en la carne del cerdo en los mataderos y el desarrollo de la tecnología en la crianza porcina. Estas acciones lograron casi la eliminación del parásito (Sciutto *et al.*, 2000; García *et al.*, 2007). Sin embargo, en otros países con un gran desarrollo global similar a los de Europa, aún no han logrado erradicar al parásito.

Esta considerado que en América Latina y en el Lejano Oriente son las regiones más afectadas, aunque existe la evidencia de su presencia en el sub continente indio, África oriental y meridional. Es especialmente en esta última zona donde la pobreza ha ido en aumento, además de la falta de tierras de pastoreo para el ganado, han contribuido a la creciente crianza de cerdos como una forma de subsistencia para las personas con escasos recursos económicos (Engels *et al.*, 2003).

En América Latina el problema de la cisticercosis en personas se manifiesta con la NCC, mientras que en Asia es más común la manifestación a nivel subcutánea. Existe una estrecha relación entre la presencia de las convulsiones y la epilepsia que padecen las personas debido a la NCC (Sciutto *et al.*, 2000; Parija y Raman, 2011).

La prevalencia tiene una aproximación a las tres cuartas partes de los 50 millones de personas que padecen de epilepsia y que viven en países pobres del mundo; de estos, sólo el 6 % ha recibido tratamiento (Pal *et al.*, 2000). Murrel *et al.* (2005) en su publicación menciona que el 70% de los pacientes en todo el mundo mayormente manifiestan las convulsiones ocasionado por la NCC. Es variable la presencia del parásito en países endémicos, pero se tiene que en promedio 1:1000 personas son portadores de la tenia adulta, 1-10% de personas y 20-40% de cerdos tienen problema de cisticercosis. Esta prevalencia de la teniasis y la cisticercosis está muy relacionado con la estrategia de reproducción de la *T. solium* porque llega a producir millones de huevos y son pocos de estos los que se llegan desarrollar a un cisticerco; de estos sólo unos cuantos llegara a ser una tenia adulta (Sciutto *et al.*, 2000).

La NCC es una infección del cerebro humano ocasionado por las larvas de la *T. solium*, esta enfermedad ocurre en gran parte de África, Asia y Latinoamérica. Es considerada como la infección parasitaria más importante del sistema nervioso central porque origina en el hombre el signo clínico de la epilepsia. Se ha relacionado a esta enfermedad con la pobreza de las regiones rurales ubicadas en las zonas marginales que practican la crianza de cerdos libres como una fuente de subsistencia (Engels *et al.*, 2003).

Las pérdidas económicas causadas por la cisticercosis en los agricultores o las familias pobres es debido a que la carne al estar impregnada con cisticercos, pierde su valor comercial en el mercado; además, el dueño corre con el riesgo de que su cerdo sea decomisado por las autoridades sanitarias y no pueda percibir compensación alguna (Engels *et al.*, 2003); por ello para evitar el decomiso de sus cerdos, sacrifican a sus cerdos clandestinamente y su carne es vendida en los mercados informales que pagan un menor precio por la carne infectada. (González, 1993; White, 1997).

En México la cisticercosis porcina causa grandes pérdidas económicas de más de la mitad de la inversión nacional en la producción porcina. Estas pérdidas son ocasionadas por la destrucción de toda carne infectada. Se ha estimado que la pérdida se aproxima a los \$ 43 millones al año (García *et al.*, 2003). En China existen unos 30 millones de cerdos infectados con cisticercosis; por lo que son sacrificados y descartada toda la carne para el consumo humano (Wang *et al.*, 2002). La carne descartada llega a los 0,2 billones de kg en todo el país, causando una pérdida de mil millones de Yuan chino por año equivalente a \$ 121 millones (Engels *et al.*, 2003). Al sur de África en los últimos años se ha incrementado la crianza y el consumo de la carne de cerdo, pero las instalaciones no tienen todas las medidas adecuadas para la crianza de los cerdos. El control de los mataderos es deficiente y la mayor práctica que se realiza es la crianza del cerdo en libertad, por lo que ocasiona que el problema con la *T. solium* se incremente. Desde 1961, se ha incrementado la población porcina llegando a triplicarse en los países de Uganda, Tanzania, Kenia, Zambia, Zimbabwe y Mozambique (Murrell *et al.*, 2005), pero aún no se está variando la forma de crianza que todavía sigue siendo deficiente en estos países.

En países no endémicos a la cisticercosis, la mayor parte de los casos son de personas provenientes de zonas endémicas o que adquirieron el parásito a través del contacto con un inmigrante portador de la tenia adulta (Schantz *et al.*, 1992; Romano *et al.*, 2000; Sciutto *et al.*,

2000; González *et al.*, 2005). Por lo que es de gran riesgo convivir con un portador de la tenia adulta debido a que implica una mayor exposición de los huevos a las personas que lo rodean, esta es la causa más frecuencia de seropositivos a la *T. solium* en estos hogares (Sciutto *et al.*, 2000). En los Estados unidos Se ha estimado que se diagnostican 1000 nuevos casos de NCC cada año. La mayoría de estos casos son provenientes de inmigrantes de América latina, sólo una pequeña minoría de los pacientes de EEUU, pero la mayoría de estos pacientes adquirieron el parásito al viajar a las zonas rurales de los países endémicos. Sin embargo, existen informes que verifica la presencia de la NCC en personas que se infectaron en su misma localidad donde viven como en la ciudad de los Ángeles, Nueva York, Chicago, y en otras partes (White, 2000). La enfermedad es también una carga en los países desarrollados debido a que los inmigrantes infectados por el parásito adulto pueden infectar a otros ciudadanos o llegar con el padecimiento de la NCC (Schantz *et al.*, 1992).

2.7 Diagnóstico

En Cerdos con cisticercosis su afección predominante en los músculos esqueléticos, el miocardio, el cerebro y las vísceras. Estos animales infectados rara vez muestran signos de enfermedad (Sciutto *et al.*, 2000).

2.7.1 Diagnóstico de Cisticercosis en cerdos

La infección por larvas de *T. solium* en los cerdos puede ser diagnosticados por dos métodos: El diagnostico *post-mortem* a la necropsia y diagnostico *ante-mortem* al realizar el examen de lengua y con las pruebas serológicas.

2.7.1.1 Diagnóstico *Post-mortem*

En la necropsia se evalúan los canales que están con la superficie expuesta, este método es el más utilizado en los mataderos autorizados, pero el problema es que la mayoría de los cerdos infectados son sacrificados clandestinamente (Gavidia *et al.*, 2013). Este método consiste en hacer cortes en los músculos y las vísceras en busca de los quistes de cisticercos, en algunas infecciones

leves llegan a pasar desapercibidas, generalmente cuando hay menos de 10 cisticercos distribuidos en toda la carcasa (Sarti, 1997).

2.7.1.2 Diagnóstico Ante-mortem

El examen de lengua es la más simple, consiste en palpar los nódulos y/o visualizar para identificar los quistes. El procedimiento es colocar al cerdo de lado lateral, sujetado firmemente y con una varilla de madera que lo mantiene con la boca abierta. Esta prueba es la más confiable utilizado por los agricultores de la sierra para diagnosticar la cisticercosis en cerdos, pero sólo tiene un 70% de sensibilidad y 100% de especificidad (González, 1993). Las vesículas son fácilmente palpables, pero las larvas que se han calcificado son muy difícil de detectarlos por ser muy pequeñas. Se ha estimado que más del 50% aparecen en la lengua de los cerdos (Sciutto *et al.*, 2000), para este examen se requiere de un personal altamente capacitado, ya que no debe tomar mucho tiempo la sujeción de animal por el riesgo a ser mordido, con este método sólo puede ser detectado un pequeño número de animales afectados.



Figura N°4. Cisticercos vesiculares (flechas) en la cara inferior de una lengua de cerdo (tomado de Larralde y De Aluja, 2006).

Las pruebas serológicas más utilizadas en el estudio de campo con cerdos son las pruebas Inmunoensayo Ligado a Enzimas (ELISA) y la Electroinmunotransferencia Blot (EITB), estas pruebas son rápidas en el diagnóstico y es menos peligrosa para el personal porque el trabajo sólo consiste en recolectar la sangre de los cerdos. La EITB combinado con antígenos purificados tiene una alta especificidad y sensibilidad en la infección por la larva de la *T. solium* (Gavidia *et al.*, 2013). Esta técnica es más específica e identifica las proteínas antigénicas específicas de la larva,

eliminando del resultado a los falsos positivos que es común en la prueba de ELISA. Esto se debe a que la prueba de ELISA utiliza el líquido del quiste crudo como antígeno, mientras que el EITB separa los principales antígenos de glicoproteínas del extracto de los cisticercos (Parija y Raman, 2011); tiene eficacia en el diagnóstico de la cisticercosis en cerdos como también en cisticercosis en humanos (González *et al.*, 1999).

La EITB utiliza siete antígenos de la glicoproteína purificado de *T. solium*, las bandas de diagnóstico son Gp50, Gp42-39, Gp24, Gp21, Gp18, Gp14 y Gp13, Gp es sinónimo de la glicoproteína y el número es el peso molecular de cada antígeno expresado en kilo Daltons, con esto se detecta la presencia de anticuerpos específicos en el suero de un cerdo infectado con cisticercosis. La sensibilidad del ensayo se afirma que es mayor a 95%, con un 100% de especificidad, cuando reacciona una o más bandas son consideradas como positivo (Tsang *et al.*, 1989, Parija y Raman, 2011). Pero no presenta ninguna reacción de las bandas cuando el cisticerco está calcificado (White, 2000).

La prueba de ELISA puede detectar los antígenos anti-Cisticerco en el suero y/o LCR del cerdo o humano, este método es mayormente utilizados en la pruebas experimentales controladas porque es poco sensible, pero muy específico para un diagnóstico (Murrell *et al.*, 2005). Se puede detectar en los sueros de los infectados la IgG, utilizando controles positivos que son conocidos. Estos anticuerpos no se muestran en los sueros de los controles negativos o en pacientes con reacción cruzada por hidatidosis (Parija y Raman, 2011). Esta Ig específicas contra el parásito puede ser detectado en el suero, líquido cefalorraquídeo (LCR) y la saliva (Ccama, 200; Murrell *et al.*, 2005).

2.7.2 Diagnóstico de la Cisticercosis en Humanos

Los signos clínicos de la cisticercosis cuando se ubica en el músculo del hombre son imprecisos; mayormente no se puede diagnosticar; pero cuando se ubica en el ojo o cerebro, los signos clínicos pueden tener más precisión (Cordero del Campillo e Hidalgo-Argüello, 1999). Estos signos clínicos fueron muy específicos en el diagnóstico de la cisticercosis a nivel del sistema nervioso central.

Para el hallazgo más preciso del cisticerco en el cerebro, se realiza con la tomografía computarizada (TC) y/o la resonancia magnética (RM). Estas pruebas son considerados como el “Gold estándar” en el diagnóstico de la NCC. Estas herramientas generalmente permiten un diagnóstico preciso de la ubicación del cisticerco en el cerebro (Sciutto *et al.*, 2000; Engels *et al.*, 2003). La TC tiene menos sensibilidad que la RM; a veces estas técnicas son suficientes para el diagnóstico de individuos afectados por los cisticercos (Murrell *et al.*, 2005). Estas pruebas ayudan mucho para un diagnóstico preciso de la NCC en pacientes para poder realizar un tratamiento médico o una intervención quirúrgica.



Figura N°5. Sección del cerebro que muestra múltiples cisticercos en la etapa vesicular (forma encefálica). Fotografía tomada desde el cerebro de un caso NCC humana (tomado de Sciutto *et al.*, 2000).

La prueba EITB proporciona un método más preciso en el diagnóstico de la cisticercosis en pacientes con problemas neurológicos, pero tiene sus limitaciones en el diagnóstico en personas, ya que se ha encontrado que en la EITB los resultados son positivo, siempre y cuando, los metacéstodos están viables; pero cuando se degeneran, se vuelven caseosos, el resultado tiende a ser negativo, con la prueba de ELISA es similar el problema (Sciutto *et al.*, 2000). La TC y RM se realizan con poca frecuencia debido a sus altos costos económicos (García *et al.*, 1991; Sarti, 1997; Murrell *et al.*, 2005). Debido a los escasos recursos económicos, las personas no se hacen estos exámenes.

2.7.3 Diagnóstico de Teniasis

La tenia adulta en el humano causa pocas o ninguna sintomatología, debido a que el daño es mínimo a nivel de la mucosa intestinal. La detección del parásito se realiza con un examen que es directo en la búsqueda de los óvulos de la tenia en la región perianal del paciente o en la materia fecal, o de los proglótidos de la tenia visto con el microscopio (Sarti, 1997; Murrell *et al.*, 2005).

2.8 Importancia en la Salud Pública

La importancia clínica de la *T. solium* en los seres humanos no es por la infección con la tenia adulta, sino por la ingestión de los huevos de la tenia, que posteriormente son liberados de los huevos las larvas en los intestinos y son diseminados por vía hematogena para formar quiste en diversos órganos y músculos en el hombre (González *et al.*, 2005); puede llegar a ser grave según donde se localiza el cisticerco. El problema más reportado en el humano es la enfermedad neurológica, la subcutánea y la ocular. La primera y la última tienen una sintomatología muy dramática; la segunda es fácilmente visible en los pacientes (Sarti, 1997; Barriga, 2002). La cisticercosis en América Latina, es más común la enfermedad neurológica a diferencia como se presenta en Asia con más frecuente la cisticercosis subcutánea reportada en la India (Sciutto *et al.*, 2000).

La NCC es una enfermedad importante en las personas causada por la larva de la *T. solium*, no causa mortalidad pero si la morbilidad en los pacientes debido a las convulsiones, déficits neurológicos focales, aumento de la presión intracraneal y un bajo rendimiento intelectual. Pero estos signos se producen en la etapa final de la enfermedad debido a la degeneración y calcificación de los quistes en el cerebro (Murrell *et al.*, 2005).

En las zonas endémicas el 80% de las personas con problema de cisticercosis no presentan ningún síntoma (Pal *et al.*, 2000). En los casos cuando se presentan los síntomas, están relacionados con cualquier problema neurológico. Esto se presenta desde un leve dolor de cabeza, mareos o convulsiones ocasionales hasta con un cuadro neurológico muy grave con hipertensión intracraneal o la demencia (Sciutto *et al.*, 2000). La causa de estos síntomas es por la respuesta inflamatoria del huésped después de la muerte del metacestodo en el cerebro, las manifestaciones

clínicas se pueden presentar de diversas formas (Pal *et al.*, 2000; Hiepe, 2011). De acuerdo a la ubicación, tamaño y la cantidad de los cisticercos; y también por los factores del hospedero como es el grado de su inmunidad y las reacciones inflamatorias que puede desarrollar (Sciutto *et al.*, 2000).

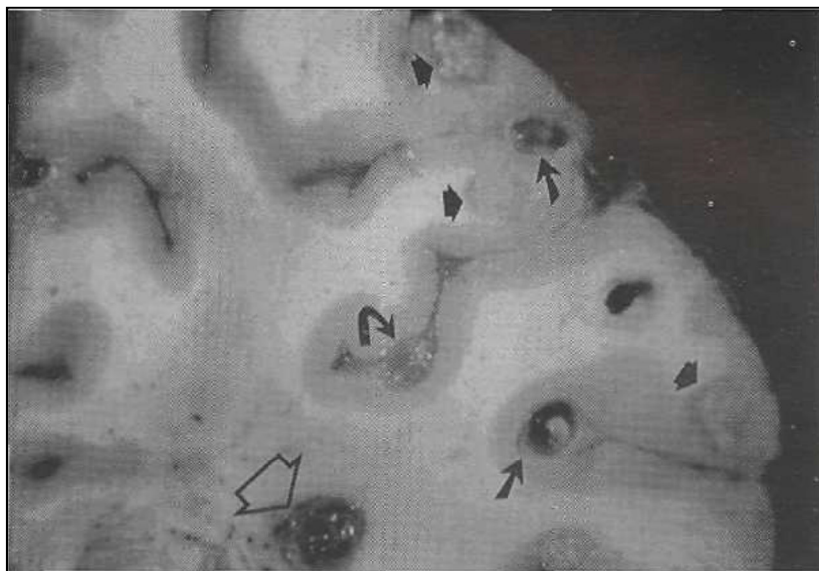


Figura N°6. Aspecto macroscópico de los cisticercos parenquimatosos en sus diversos estadios evolutivos: quistes vesiculares (flecha recta), quistes coloidales (flecha curva), granulomas (cabeza de flecha) y calcificaciones (flecha abierta) (tomado de Del Bruto, 1999).

La NCC está muy relacionada con las convulsiones que sufren las personas que proceden de zonas endémicas. En estudios controlados se pudo demostrar la asociación de la NCC con las convulsiones que sufrían las personas. El 30% de las convulsiones está relacionado con la NCC; la prevalencia en las poblaciones de zonas endémicas es de 25% (García *et al.*, 2007).

La estimación en el costo mínimo en servicio hospitalarios y pérdidas en los salarios que genera la NCC en los EEUU (un país no endémica) fue \$ 8.8 millones sólo en costos de tratamientos anual, en México y Brasil fue de \$ 89 millones y \$ 85 millones (Pal *et al.*, 2000). En Perú se ha estimado que en los 2 primeros años, el costo fue de \$ 966 por paciente relacionados con la pérdida de la salud y la productividad. Además, los dos tercios de los trabajadores que perdieron sus empleos, y sólo el 61% tenían la capacidad de volver a sus actividades de trabajo (Rajkotia *et al.*, 2007; Gavidia *et al.*, 2013).

2.9 Control y prevención de la teniasis y la Cisticercosis

La enfermedad causada por la *T. solium* está declarada como potencialmente erradicable; ya que sólo afecta al hombre y al cerdo (Schantz *et al.*, 1993; OMS, 1998; Engels *et al.*, 2003; Murrel *et al.*, 2005). Se ha demostrado que eliminando el reservorio de la infección es el factor clave en el esfuerzo para el control y/o la erradicación del parásito (OMS, 1983).

La teniasis y la cisticercosis están relacionadas principalmente con la pobreza en que viven las personas en países en vía de desarrollo. Las personas con escasos recursos económicos y que viven en zonas endémicas crían cerdos como una forma de subsistencia; al no poder brindar a sus cerdos una buena alimentación, dejan que estos anden libremente para que puedan buscar sus alimentos en el campo. Los cerdos generalmente buscan sus alimentos en lugares de defecación pública; y al estar libre, se les facilita a que tengan accesibilidad a la materia fecal impregnada con huevos de la *T. solium* (Sciutto *et al.*, 2000; García *et al.*, 2007). Una manera de evitar que se infecten sería que acorralen a sus cerdos, evitando que deambulen y tengan accesibilidad a la materia fecal, pero por razones económicas, los dueños prefieren que busquen su comida (García *et al.*, 2007).

2.9.1 Uso de Antihelmínticos en Humanos

El control de la parasitosis en el hombre es por medio de la administración de antihelmínticos como la niclosamida y el praziquantel. Son muy efectivos para la desparasitación en humanos y en cerdos, pero el uso en cerdos está limitado por el alto costo del medicamento (Bowman, 2003). Los antihelmínticos eliminan al parásito adulto en el intestino y/o los quistes que están impregnados en los músculos. Su desventaja está en que no afecta a los huevos de la tenia que recientemente infectan al individuo, por lo tanto, la transmisión sería simultánea después de recibir el tratamiento en las personas. En pacientes que todavía no han sido diagnosticados con problemas de neurocisticercosis; el uso de estos fármacos les causarían efectos adversos con la aparición de los signos clínicos, debido a la muerte de los metacístodos que se ubican en el cerebro; excepto en los pacientes que están diagnosticados y supervisados por un médico al recibir el tratamiento adecuado (Lightowlers, 2010). Si no se supervisa a los pacientes, la morbilidad se puede incrementar considerablemente entre 1-3 días después de comenzar la terapia, debido a la

destrucción de los cisticercos y la reacción inflamatoria que se genera en el cerebro (Kassai, 1998). Aún no existen pruebas suficientes para comprobar que el tratamiento de la neurocisticercosis con fármacos consiga efectos beneficiosos en los pacientes a largo plazo (Salinas y Prasad, 2000).

La utilización de los antihelmínticos en las personas portadoras de la tenia adulta como un método para erradicar la cisticercosis no sería eficaz al convivir con cerdos infectados con cisticercos; el parásito permanecerá presente y nuevamente resurgirá la infección en las personas (González *et al.*, 2005; Assana *et al.*, 2010). La mayoría de los tratamientos contra la *T. solium* han sido realizadas en el hospedero definitivo (los seres humanos) sólo para eliminar a la tenia adulta y posteriormente, evitar que libere sus huevos. Esta acción de realizar sólo tratamientos a las personas y no a los cerdos pudo haber incrementado la susceptibilidad de infección con cisticercosis a toda la población porcina (Jayashi *et al.*, 2012); como lo descrito en un estudio que encontró un incremento en la prevalencia de cisticercosis porcina cuando había tratamiento masivo de toda la población de personas con antihelmínticos (Keilbach *et al.*, 1989).

2.9.2 Uso de Antihelmínticos en Cerdos

El efecto de los antihelmínticos en la población porcina es temporalmente eficaz en la disminución de la prevalencia del parásito, pero puede regresar rápidamente a sus valores basales en transcurso de los meses o años. Esto ocurre luego de suspender las campañas de desparasitación en la población porcina (García *et al.*, 2010). La desparasitación con antihelmínticos sólo presenta eficacia cuando es utilizado en el momento que el cerdo está infectado y posteriormente no evita una re-infección con el parásito (González *et al.*, 2003). En Ecuador y México la efectividad del praziquantel en tratamientos masivos en la población logró disminuir la prevalencia de la cisticercosis; pero, dos años después el efecto del fármaco disminuyó, llegando inclusive a aumentar el problema de la cisticercosis en la población porcina a casi el doble (Sarti, 1997).

El tratamiento con oxfendazol en cerdos fue efectivo en la eliminación de los cisticercos. Su efecto fue disminuir la cantidad de infestación de los metacestodos en la carne del cerdo, con esta acción se reduce la probabilidad de la aparición de nuevos casos de personas con teniasis e indirectamente se reduciría la frecuencia de la NCC (Lightowlers, 2010), pero este tratamiento tiene dos limitaciones. La primera es el uso del tratamiento en cerdos que no están infectados con la larva

de la *T. solium*, los vuelven más sensibles y tienen un alto riesgo a una nueva infección, por lo que no evitaría que los cerdos puedan infectarse con los huevos del parásito después de haber recibido el tratamiento con el antihelmíntico. Existe un período aproximado de 6 semanas de infección en el cerdo, que tendría la capacidad de poder transmitir el parásito. Esta acción no es un método preventivo, sólo brinda una ventana de tiempo donde los animales pueden ser sacrificados antes de que se desarrolle la larva en los músculos. La segunda es después del tratamiento antihelmíntico presenta lesiones leves en el musculo de los animales a causa de las reacciones inflamatorias por la muerte de los cisticercos que han estado presentes en los músculos mediado por el antihelmíntico. El cisticerco muerto no infecta a la persona. Sin embargo; los cisticercos que han perdido la vida y están ubicados en los músculos, forman lesiones necróticas; y si son numerosos, su carne no podría venderse para el consumo humano. Estas lesiones persisten hasta los 6 meses después de haber recibido el tratamiento con el oxfendazol (Assana *et al.*, 2010; Lightowlers, 2010).

2.10.1 Salud Pública

En Europa los niveles de infección con la *T. solium* esta disminuida o casi eliminado por haber mejorado en la sanidad pública. Ahora no presenta mayor problema en el continente europeo (White, 1997; Plancarte *et al.*, 1999, González *et al.*, 2005; Murrel *et al.*, 2005). El mejoramiento de la sanidad pública es un método muy efectivo, pero esto se logra a largo plazo; debido a la dificultad de implementarlos en los países en vía de desarrollo por el alto costo que le genera. Se han planteado otras alternativas como el tratamiento a todas las personas procedentes de zonas endémicas con el uso de antihelmínticos o la educación en el cuidado de su salud que evite la infección con el parásito. Estas acciones logran que la eficacia sea solo de un corto periodo de tiempo en los países que están en vía de desarrollo (Plancarte *et al.*, 1999; González *et al.*, 2005). Con esta alternativa la prevalencia disminuye sólo por un corto periodo, luego su prevalencia se incrementa al no continuar con el tratamiento.

2.10.2 Educación Pública

La educación pública es un método importante en las personas que viven en zonas endémicas debido a los cambios generados en su comportamiento. Este método se refleja en los cambios de comportamiento en las personas al tratar de interrumpir la infección con el parásito,

como el uso de letrinas en vez de la defecación al aire libre, lavarse las manos después de ir al baño y evitar que los cerdos deambulen libremente. Adoptar estas medidas, proporciona una medida adicional en el control de la *T. solium* (Plancarte, *et al.*, 1999; González, 2003), pero esta medida al ser utilizado como un único método, no ha podido lograr la erradicación o disminución de la transmisión del parásito por las condiciones en el que viven, principalmente, las personas pobres (Lightowlers, 2010).

2.10.3 Vacunación

La vacunación en los cerdos es un nuevo método potencialmente valiosa muy prometedora para la prevención transmisión de la *T. solium* (Lightowlers, 1999 Plancarte *et al.*, 1999). La cisticercosis está muy relacionada en las personas con escasos recursos económicos. El uso de una vacuna eficaz a un precio bajo que logre una buena protección sería la mejor estrategia como prevención contra la cisticercosis en cerdos; y unido con otras estrategias de control, se podría lograr un mejor control de la teniasis/cisticercosis y posiblemente, erradicar la *T. solium* (Lightowlers, 1999, 2010; Plancarte, *et al.*, 1999; Gonzales *et al.*, 2003; Assana *et al.*, 2010). La ventaja de usar este método se debe a que el cerdo es el único huésped intermediario más importante dentro del ciclo de vida de la *T. solium*; por lo que existe una mayor posibilidad de interferir en la transmisión del parásito (Wang *et al.*, 2002; Jayashi *et al.*, 2012). Además la administración de la vacuna en el cerdo es fácil y le brinda una protección el tiempo de vida del cerdo que dura en la producción (aproximadamente de 1 año); por lo que no es necesario una protección a largo plazo (Sciutto *et al.*, 2000; Sarti y Rajshekhar, 2003).

Para el desarrollo de una vacuna efectiva contra la cisticercosis ha sido necesario e importante tener un amplio conocimiento sobre la diversidad genética, patológica y antigénica de la *T. solium* (Sciutto *et al.*, 2000). Lo más destacado ha sido la investigación en el desarrollo de la inmunidad del hospedero contra la larva de *T. solium* en sus diferentes etapas de desarrollo. Se realizaron investigaciones en cultivos *in vitro* de oncósfera y metacéstodo; posteriormente son trasplantados en conejos que anteriormente habían sido infectados con huevos del parásito. Después de la implantación del metacestodo, este no indujo una protección; a diferencia de las oncósfera, que si desarrollo anticuerpos específicos. Con estos resultados se pudo confirmar que el antígeno protector está asociado particularmente en las primeras etapas de desarrollo de los céstodos ténidos al presentar susceptibilidad al sistema inmunitario del hospedero a diferencia de los metacéstodo

maduro que son más resistentes (Lightowlers, 2006). Otra investigación se realizó con antígenos excretorio y secretorio derivado de oncósferas realizado en un cultivo *in vitro*; al implantarlo a los cerdos antes de infectarlos se obtuvo como resultado un 94,9 % en reducción a la infección en los animales vacunados (Pathak y Gaur, 1990). Esta información nos da la posibilidad de desarrollar vacunas a base a antígenos derivados de oncósferas de los cestodos tenidos (González. *et al.*, 2005; Lightowlers, 2006; 2010; Assana *et al.*, 2010).

Se ha desarrollado preparaciones antigénicas crudas o recombinantes, que pueden proteger contra otras especies de tenias relacionados con la infección a humanos; el más relacionado es con la *T. solium* de los cerdos (Ccama, 2001). Se realizaron otras investigaciones similares y se logro una protección al utilizar el antígeno de las oncósferas de otras especies de tenias como la *Taenia pisiformis*, *Taenia ovis*, *Taenia hydatigena*, *Taenia saginata* y *Echinococcus granulosus*. Este logro se debe a la semejanza en el aspecto biológico de las tenias (Sciutto *et al.*, 2000; Plancarte *et al.*, 1999). Con el desarrollo de la tecnología del ADN recombinante, se pudo desarrollar diferentes investigaciones de vacunas contra *T. ovis* (1989), *T. saginata* (1996) y *E. granulosus* (1996) (Lightowlers, 2006; Cai *et al.*, 2008).

Los cerdos vacunados con los antígenos de oncósferas indujeron una protección de 89% al ser desafiados con huevos de la *T. solium*; pero cuando fueron vacunados con antígenos 45W, 16K y 18K de *T. ovis* les indujo una protección del 93%. Con este resultado aumenta la posibilidad de utilizar vacunas con proteínas recombinantes producido con genes que codifican los homólogos de los antígenos de la *T. solium*. En una investigación se utilizaron los genes homólogos 45W y 18K para ser clonados en los genes de la *T. saginata* y se obtuvo una protección del 99,8% en la vacunación del ganado vacuno (Lightowlers *et al.*, 1996) y con la *T. solium* ha sido utilizado la clonación del gen homólogo 18K (Gauci *et al.*, 1998; Gauci y Lightowlers, 2001). Por lo que se puede deducir que la *T. ovis* albergan antígenos protectores que induciría altos niveles de protección contra la infección de la *T. solium* en cerdos; lo que podría formar la base de una vacuna práctica para su uso en la protección en cerdos (Plancarte *et al.*, 1999; Huertas *et al.*, 2002).

Las primeras vacunas con antígenos nativos provenientes de oncósfera de *T. solium* tiene una alta eficacia mayor al 99% en investigaciones con todas las condiciones controladas. Pero estas proteínas nativas sólo fueron utilizados experimentalmente; ya que no es posible aplicarlo en la práctica debido a que su producción es muy limitada (Cai *et al.*, 2008; Jayashi *et al.*, 2012). La

oncósfera posee tres antígenos de protección (Tsol16, Tsol18 y Tsol45), que inducen niveles muy altos de protección mayor al 97% en los cerdos que fueron vacunados; sin embargo, el más destacable entre los antígenos es la Tsol18 por su eficacia mucho más alta (Lightowlers, 2010), con esto se ha logrado que el antígeno Tsol18 sea equivalente al mismo nivel de protección que los antígenos de oncosfera nativos de *T. solium*. (Flisser *et al.*, 2004).

Existen otros candidatos de vacunas contra la cisticercosis que han sido muy prometedoras como el uso antígeno Tsol45-1A su efecto es disminuir la carga parasitaria en un 97% (Flisser *et al.*, 2004). La vacuna de ADN tiene su función limitada a la destrucción de la pared del metacestodo. Esta vacuna al ser inoculado en los cerdos recién nacidos les indujo una protección reduciendo tan solo un 73,3% el número metacestodo (Wang *et al.*, 2002). Otra vacuna S3Pvac producida en forma sintética en México ha logrado una reducción del 50% en el número de cerdos infectados y un 98% la cantidad de parásitos instalados (Larralde y De Aluja, 2006).

La función que cumple el antígeno Tsol18 en la oncósfera es permitir que sobreviva penetrando la mucosa intestinal y se establezca en el músculo esquelético del hospedero infectado. Por lo que el parásito sería incapaz de sobrevivir si la respuesta inmune está dirigida específicamente contra la Tsol18 (Gauci *et al.*, 2006). La secuencia de este gen está bien conservada en los aislados de las *T. solium* que son procedentes de distintas ubicaciones geográficas en el mundo. Son de diferentes genotipos sobre la base del gen citocromo oxidasa sub unidad 1(COX1) genes del ADN mitocondrial, por lo que no habría ningún inconveniente en la eficacia al realizar la vacuna con el antígeno Tsol18 y utilizarlo en las diferentes regiones endémicas del mundo (Gauci *et al.*, 2006; Cai, 2008). El gen que codifica al antígeno Tsol18, es homólogo a los genes de la To18 (*T. ovis*) y la TSA18 (*T. saginata*) que han presentado una alta eficacia al utilizarlos como vacunas contra las larvas de los cestodos respectivos (Cai *et al.*, 2008); pero la vacuna al ser derivado de antígenos de oncósferas, su efecto estaría limitado sólo contra las oncósferas que infectan después de recibido la vacuna, pero no contra los metacéstodo que están establecidos en los músculos o en el cerebro antes de recibir la vacuna (Lightowlers, 2010).

Existen otra investigación comprobado a nivel experimental la efectividad de la vacuna con antígeno recombinante Tsol18, que ha sido expresado en la *E.coli*. Con esto se ha inducido una protección total reduciendo en altos niveles la carga parasitaria hasta en un 100% en ensayos de infecciones experimentales con oncósfera de *T. solium* en la mayoría de los cerdos que fueron

vacunados (Flisser *et al.*, 2004; Cai *et al.*, 2008; Lightowlers, 2010). Además los cerdos toleran bien la vacuna al no causarles ninguna reacción en el lugar de aplicación después de recibir la vacuna (Assana *et al.*, 2010). Todo lo mencionado se ha podido comprobar por investigaciones realizadas en México, Honduras, Perú, Ecuador y Camerún; con estos trabajos se corrobora la protección del antígeno en diferentes ubicaciones geográficas (Flisser *et al.*, 2004; Gauci *et al.*, 2006; Lightowlers, 2006, 2010).

En la actualidad existen varias vacunas que han sido desarrolladas para proteger contra la infección de la larva de la *T. solium*; pero la vacuna con más eficacia es la que tiene el antígeno Tsol18, que es una proteína recombinante obtenido de los huevos de la *T. solium* (oncósferas), se han realizado evaluaciones en cerdos con infecciones controladas en laboratorio (Flisser *et al.*, 2004; González *et al.*, 2005) e infecciones naturales realizado a nivel de campo (Assana *et al.*, 2010); la duración exacta del efecto de la inmunidad adquirida por la vacunación con el antígeno Tsol18 realizado en campo fue 10 meses de edad en los cerdos en Camerún (Assana *et al.*, 2010) y en Perú fue de 7 meses (Jayashi *et al.*, 2012).

Existen limitaciones para poder producir a gran cantidad la vacuna Tsol18; esto es debido al nivel relativamente bajo en su expresión, inestabilidad y dificultad en la purificación a gran escala. Por lo que se está produciendo el antígenos Tsol18 utilizando el sistema de expresión en las células eucarióticas (*Pichia pastoris*) para una purificación más simple. Aún se está evaluando la eficacia por medio de esta producción (Cai *et al.*, 2008). Hasta el momento el uso de la vacuna ha sido limitado para investigaciones. Es la Universidad de Melbourne quien está proporcionando esta vacuna sin ningún costo, sólo con el fin de poder maximizar su producción y usarlo en beneficio de la gente pobre de los países en subdesarrollo (Lightowlers, 2010).

La gente con escaso recurso económico tienen poca probabilidad que puedan invertir en el tratamiento y/o vacunación de sus cerdos, porque esta acción les genera gastos; al igual que el cólera porcino, que les genera grandes pérdidas, la gente pobre no vacuna a sus cerdos para evitar gastar y/o tomarse el tiempo de estar inmunizándolos; a pesar que el costo de la vacuna es de \$ 0,50 por animal (García *et al.*, 2007). Estas vacunas que son de bajo costo y de fácil manejo, es fácil la administración masiva sin problemas en toda la población porcina con el apoyo del gobierno de cada país que puede asumir el costo total o parcial del la vacuna contra cisticercosis por ser una enfermedad zoonótica muy importante (Sarti y Rajshekhar, 2003).

Para una prevención y control adecuado es necesario realizar programas de vigilancia epidemiológica junto con la participación de los centros de salud, un sistema sanitario adecuado y la educación de la población (Sarti, 1997). Mencionan que en teoría se conoce los beneficios del uso de los antihelmínticos en las personas; pero, no hay un estudio exacto que explique el tiempo prolongado que se debe usar para lograr una reducción importante y sostenida en la transmisión de la *T. solium*. Se conoce que su eficacia para el control es pequeña, incluso si se combina con la educación pública o el tratamiento antihelmíntico de la cisticercosis porcina (Lightowlers, 2010). Con la vacunación de la población porcina, se tendría una ventaja con este método de control se induciría que los cerdos adquieran inmunidad contra las larvas del parásito; de esta manera el control de la parasitosis en regiones endémicas ya no sería fácilmente interrumpido a diferencia de otras medidas de control que han sido poco eficaces ante la inmigración de los portadores de tenia a un área controlada (Jayashi *et al.*, 2012). En una investigación realizado por Assana *et al.*, (2010) concluye que para lograr una mayor eficacia en la prevención y control contra la cisticercosis seria combinar la vacunación con Tsol18 junto con el tratamiento con oxfendazol a la población porcina, con esto se lograría la eliminación completa la transmisión de la *T. solium*. Esta es la estrategia más prometedora para erradicar el problema del parásito en la población humanos y en los cerdos (Lightowlers, 2010).

El buen manejo de la vacuna contra la cisticercosis garantiza una buena eficacia al inmunizar los cerdos. Es muy importante lograr una alta eficacia en la protección; por ejemplo no se debe realizar la vacunación a temprana edad en los lechones porque existe una mayor probabilidad de ausencia de respuesta en la formación de anticuerpos; debido a que el sistema inmunológico aún no está desarrollado completamente, debido a que su desarrollo la realiza unas semanas después del nacimiento del cerdo; generalmente la vacunación se realiza a las 6 – 8 semanas de vida. Otro problema en la vacunación es la interferencia de los anticuerpos maternos; existe la opción de vacunar a las cerdas gestantes para que puedan ser protegidos los lechones a través del calostro que reciben de su madre. Se tendría que formular diferentes programas de vacunación para la cerda y los lechones. Con esto se lograría altos niveles de anticuerpos anti-Tsol18 transferidos de la madre hacia sus lechones. Posteriormente existe la posibilidad que los anticuerpos maternos interfieran ante la inmunización activa de los lechones, por el motivo que aún se desconoce la duración de la interferencia de los anticuerpos maternos, además por la variabilidad en la duración de tiempo de los títulos de anticuerpos en los lechones debido a la diferencia de la cantidad calostro transferido (Lightowlers, 2010). Los lechones provenientes de zonas endémicas están potencialmente expuestos

a temprana edad a la infección con *T. Solium*, no se tiene datos relativos de la edad en la que los cerdos se infectan con *T. solium* (Lightowlers, 2010). En las ovejas reproductoras que fueron vacunadas contra la *T. ovis* en la etapa de gestación, se pudo lograr un importante nivel de protección con anticuerpos del calostro a sus crías por medio de la transferencia de anticuerpo de la madre hacia la cría (Dempster *et. al*, 1995).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Lugar de estudio

Este estudio fue realizado en el Bioterio del Laboratorio de Medicina Veterinaria Preventiva (LMVP) de la Facultad de Medicina Veterinaria - UNMSM que está ubicada en el distrito de San Borja, en Lima, Perú. Los corrales fueron acondicionados para el alojar a los cerdos; la temperatura promedio de los corrales fluctúa entre 13 °C a 16°C en invierno entre los meses de abril – setiembre y entre 18°C a 19 °C durante el verano entre los meses de octubre – marzo con una humedad relativa de 95% que fue constante en todo el año.

3.2 Animales

El trabajo se realizó con 50 lechones del cruce de Landrace y Pietrain elegidos aleatoriamente procedentes de cerdas inmunizadas (CI) con la vacuna Tsol18 IIL y de cerdas no inmunizadas (CNI) proveniente de una granja comercial. Las cerdas fueron inmunizadas con dos dosis de vacunas a las 6 y 2 semanas antes del parto. Una semana después del nacimiento de los lechones, estos fueron identificados con un número, sexados y aretados; previamente se les tomó muestras de sangre para evaluar los títulos de anticuerpos (TA) maternos. Después del destete fueron trasladados a los corrales de experimentación y separados aleatoriamente en cuatro grupos, independientemente de su tamaño, peso corporal y sexo. Al cumplir treinta días de edad, todos los lechones fueron vacunados contra el cólera porcino con dos dosis en un intervalo de dos semanas.

3.3 Metodología

3.3.1 Inmunización de los cerdos

Los cerdos fueron inmunizados con la vacuna Tsol18 IIL que ha sido desarrollada por la Universidad de Melbourne junto con la India inmunológicos Ltd. (IIL). El antígeno Tsol18 ha sido desarrollado y producido en células eucariotas específicamente en la levadura llamado *Pichia pastoris*, que ampliamente utilizado para la expresión de proteínas utilizando técnicas de ADN recombinante.

Se realizó una selección aleatoria entre los lechones para formar los 4 grupos de acuerdo al programa de vacunación (Cuadro N°1). La primera inmunización fue realizada por vía intramuscular a nivel de la tabla del cuello en el lado derecho, y la segunda inmunización se realizó en el lado izquierdo.

El procedimiento de la vacunación se realizó de la siguiente manera:

1. Once cerdos provenientes de cerdas inmunizadas fueron vacunados con Tsol18 IIL junto con el adyuvante ISA206, la primera dosis a las 8 semanas y la segunda dosis a las 12 semanas de edad.
2. Doce cerdos provenientes de cerdas inmunizadas, fueron vacunados con Tsol18 IIL junto con el adyuvante ISA206; la primera dosis a las 12 semanas de edad y la segunda dosis a las 16 semanas de edad.
3. Doce cerdos provenientes de cerdas inmunizadas fueron el control y sólo se les colocará suero fisiológico.
4. Dieciséis cerdos provenientes de cerdas no inmunizadas fueron el control y sólo se les colocará suero fisiológico.

Cuadro N° 1. Programa de Inmunización de los cerdos con la Vacuna Tsol18 IIL.

Grupo	Numero de lechones	Tipo de Vacuna	Tipos de madres cerdas	Adyuvante	Numero de dosis	Volumen de cada dosis	semanas de vacunación en los lechones	Duración total de la investigación (+/- 1 semana)
1	11	TSOL18 IIL	Vacunadas	ISA 206	2	1 ml	8 y 12 semanas	20 semanas
2	12	TSOL18 IIL	Vacunadas	ISA 206	2	1 ml	12 y 16 semanas	20 semanas
3	11	Suero fisiológico	vacunadas	ninguno	2	1 ml	8, 12 y 16 semanas	20 semanas
4	16	Suero fisiológico	No vacunadas	ninguno	2	1 ml	8, 12 y 16 semanas	20 semanas

Prevía a la vacunación, se les midió la temperatura a cada cerdo; después de recibir la vacuna se les siguió evaluando la temperatura durante 15 días; una vez al día en las primeras horas de la mañana; sólo en el día de la vacunación se evaluó 3 veces la temperatura a la una, tres y siete horas después de haber recibido la vacuna. También se evaluó la reacción local en el lugar de la vacunación y si presentaban algún signo clínico durante los primeros 4 días; y en el día 7 y 14 post vacunación.



Figura N°7. Inmunización de los cerdos con la vacuna Tsol18 IIL vía intramuscular en la tabla del cuello en el lado derecho.

3.3.2 Recolección de muestra

Se realizaron 5 tomas de muestra de sangre a las 2, 8, 12, 16 y 20 semanas de edad. Para la toma de muestra en los lechones fueron derribados y colocados en posición decúbito dorsal, sujetados de la cabeza, miembros anteriores y posteriores en forma extendida (Figura N° 9). El sistema de sangrado fue realizado con tubos al vacío sin anticoagulante (VACUTAINER), la cantidad de la toma muestra de sangre fue aproximadamente de 5 ml extraído de la vena yugular.

En gorrinos la extracción de sangre fue realizada sujetando el maxilar superior con el lazo formando una línea recta con el lazo y el ayudante. Seguidamente se introdujo la aguja con tubos al vacío sin anticoagulante (VACUTAINER) en el punto medio de la fosa yugular extraído de la vena yugular. La cantidad de la toma muestra de sangre fue de aproximadamente 8ml. (SUIS, 2008).

Las agujas que se utilizaron son de 21x1 y al aumentar de tamaño los cerdos se cambió la aguja a un 20x1 ½. Las muestras en los tubos serán identificados con el número de los cerdos y la fecha. Después de la extracción fueron refrigerados por 3 horas, y centrifugados a 3200 rpm durante 7 minutos, se extrajo el suero y fueron congelados en viales de 1.5 ml. Se almacenó 3 duplicados de muestra cada cerdo.



Figura N° 8. Toma de muestra de sangre a los lechones con los tubos vacutainer.

3.3.3 Prueba serológica ELISA Indirecta

Los sueros fueron recolectados de acuerdo al programa de la toma de muestra para evaluar los TA específicos contra la vacuna Tsol 18 IIL. La prueba serológica elegida para la evaluación es la prueba de ELISA indirecta (Cai *et al.*, 2008). Esta prueba indica el nivel de anticuerpos en los sueros de los cerdos. Es una técnica sensible y se puede procesar muchas muestras al mismo tiempo (Rodríguez S. *et al.*, 2012). Esta técnica fue estandarizada utilizando el antígeno Tsol18 como antígeno para identificar cerdos positivos y negativos; de acuerdo a los niveles de anti-Tsol18 expresados en IgG presente en el suero de los cerdos.

3.3.4 Procedimiento de la ELISA Indirecta

1. Se sensibilizó una placa NUNC MAXISORP con antígenos TSOL18 a una concentración de 0.3 ug/ml diluido en 10 ml de buffer bicarbonato (Mezclado como mínimo 15 minutos). Se distribuyó 100 ul de esta mezcla en cada pozo de la placa.
2. La placa fue colocado en agitación (Shaker) por 1 hora a 37°C, luego fue almacenado a 4°C durante la noche.

3. Al día siguiente, las placas fueron lavadas 3 veces con PBS- Tween 0.05% y secado sobre el papel toalla.
4. Se Agregó 150ul de un Buffer Bloqueante (PBS- Tween 0.05% - NBCS 2%) en cada pozo, se incubó a 37°C por 1 hora en agitación.
5. Fue descartado todo el contenido de la placa y no se efectuó ningún lavado.
6. Luego se agregó 100ul de la muestra de suero de lechon que fue previamente tratado, se duplicó cada muestra y fue incubado por 1 hora a 37°C en agitación. Las muestras fueron previamente diluidas 1/200 en PBS-Tween 0.05% - NBCS 5%
7. Fue lavado 5 veces con PBS- Tween 0.05% y secado sobre el papel toalla.
8. Se Preparó una dilución de 1/8000 del conjugado (cabra anti-porcina Ig G- KPL) en una solución de PBS- Tween 0.05% y NBCS al 5%. Se agregó 100 ul a los pocillos y se dejó incubado por 1 hora a 37°C en agitación.
9. Fue lavado 5 veces fueron lavadas 3 veces con PBS- Tween 0.05% y secado sobre el papel toalla.
10. Se agregó 100ul. de la solución de un sustrato (1 pastilla de OPD 10 mg- Sigma disolver en 10 ml de buffer citrato). Se Colocó la placa en la oscuridad por 30 minutos a 30° C. No en el agitador.
11. Se detuvo la reacción añadiendo 50 ul de H₂SO₄ 2N.
12. Luego fue leído en el espectrofotómetro a 450 nm.

Nota:

* NBCS (suero de becerro recién nacido)

* Todas las agitaciones se hicieron a una velocidad de 4 del título de la placa de agitación.

3.3.5 Porcentaje de positividad (PP) y el Punto de corte

Los valores títulos de anticuerpos (TA) de cada cerdo están expresados con la densidad óptica (DO) que fueron obtenidas con la prueba de ELISA indirecta estandarizada con el antígeno Tsol18.

La DO de cada muestra problema fue estandarizada con la DO de los controles negativos (antes de la primera vacunación) y de los controles positivos (6ta semana posterior a la segunda vacunación) del suero de un grupo experimental de cerdos que fueron inmunizados con la vacuna Tsol18 IIL con todas las condiciones controladas. Con la estandarización se pudo obtener el Punto de corte en OD con valor de 0.226 unidades de absorbancia. Valores mayores a este punto fueron considerados como positivos y los menores como negativos.

Los valores en PP sirven para realizar un ajuste en los valores de la DO de cada muestra problema de acuerdo al valor del pool positivo, de tal forma que se minimiza los cambios que puedan sufrir los datos en la variación interplaca debido al trabajo con grandes cantidad de sueros, por lo que el valor de la PP no representa un valor real porque fue obtenida al dividir la DO de la muestra problema con la DO del control positivo estándar y multiplicado por 100 (Wright *et al.*, 1993).

3.3.6 Obtención de la Vacuna Tsol18 IIL

La obtención de la vacuna Tsol18 IIL ha sido brindado por GALVmed que trabaja junto con la Universidad de Melbourne y la India inmunológicos Ltd. (IIL) en coordinación con el Grupo de Trabajo cisticercosis en el Perú para apoyar el desarrollo de una vacuna contra la cisticercosis en los cerdos.

3.3.7 Análisis de datos

Los TA anti-Tsol18 fueron analizados en función al PP de cada cerdo. Se usó la prueba no paramétrica de Shapiro-Wilk ($n < 50$) para confirmar si los datos obtenidos tenían una distribución normal. Los datos no presentaron una distribución normal, por lo que la prueba de elección para el estudio fue la Prueba No paramétrica Kruskal-Wallis que comparó los datos no continuos en los diferentes tiempos (2, 8, 12,16 y 20 semanas de edad).

Se evaluaron las medianas con los datos de cada grupo de cerdos. Luego se elaboró una gráfica longitudinal que indicó como era el comportamiento de los TA en diferentes tiempos (2, 8, 12,16 y 20 semanas de edad).

Se usó la prueba Exacta de Fisher para ver la existencia de asociación de los grupos de cerdos procedentes de CI (Grupo 1, grupo 2 y grupo 3) y la presencia de anticuerpos Anti-Tsol18 (Positivo y Negativo) en diferentes semanas (2, 8, 12,16 y 20 semanas de edad de los cerdos).

Los datos obtenidos fueron introducidos en una base de datos utilizando el programa de computación EXCEL y las pruebas estadísticas fueron analizadas con ayuda del programa estadístico STATA 12.

IV. RESULTADOS

En la gráfica longitudinal (Figura N° 9) representa la distribución de las medianas de los PP de los diferentes grupos de cerdos en diferentes semanas. Las crías de las cerdas inmunizadas (CI) con la vacuna Tsol18 IIL tienen valores altos en sus títulos de anticuerpos (TA) al inicio del estudio. Estos anticuerpos descienden al pasar las semanas, sólo los grupos de cerdos fueron inmunizados con la misma vacuna que recibió su madre, logran incrementar sus títulos de anticuerpos. El grupo 2 obtiene un elevado incremento en sus TA (de 6,7 a 44.5 PP) en la primera inmunización, realizado en la semana 12, a diferencia del grupo 1 que en su primera inmunización realizado en la semana 8 no obtuvo un gran incremento (de 10.6 a 19.7 PP).

El grupo 3 (control positivo) sus TA descendieron hasta un mínimo nivel debido a que este grupo de cerdos no recibió ninguna inmunización, incluso su valores en la semana 16 y 20 fue semejante a los del grupo 4 (control negativo) que mantuvo sus TA en niveles basales desde inicio hasta el final del estudio.

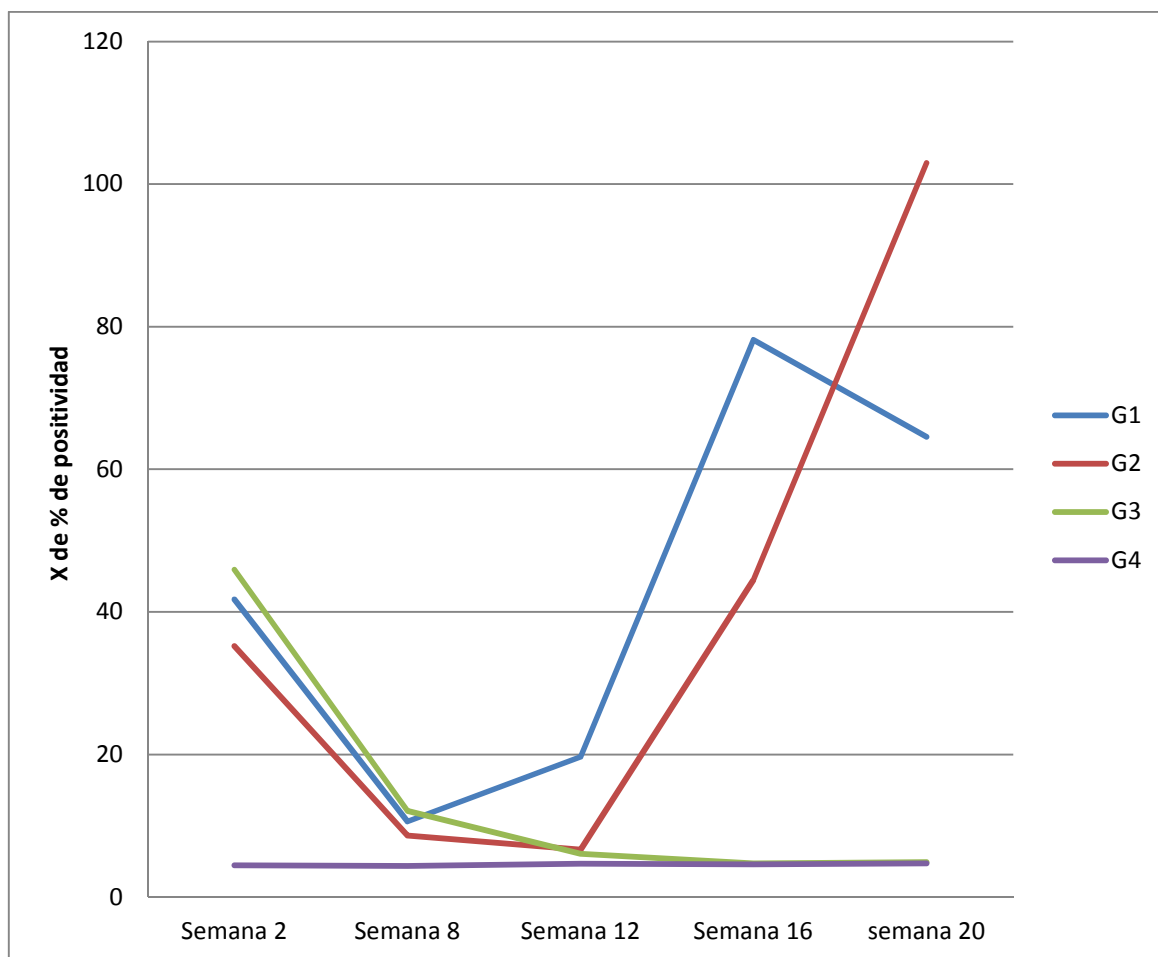


Figura N° 9. Los títulos de anticuerpos antiT-sol18 (IgG) representado con las medianas de los datos de cada grupo de cerdo en diferentes semanas

Los datos analizados con la prueba Shapiro-Wilk demostraron que los TA de cada grupo de cerdos no tenían una distribución normal, con este resultado se procedió a analizar los datos de cada grupo de cerdos con la prueba kruskal-Wallis (cuadro N° 2), pero no se consideró los datos del grupo 4 (control negativo) debido a que tenían diferente procedencia (proceden de CNI), sólo fueron considerados los datos de los grupos 1, 2 y 3, debido a su misma procedencia (procedían de CI).

En el cuadro Nro. 2, al comparar las medianas de los TA de la semana 2 y 8 entre los tres grupos, no existió diferencia significativa ($P > 0.05$). Es a partir de la semana 12 fue donde existió diferencia significativa ($P < 0.05$), entre los grupos 1 y 2, y los grupos 1 y 3, pero no entre los grupos

2 y 3. El grupo 1 presentó niveles altos de TA en relación al grupo 2 y 3; esto posiblemente se debe a la primera inmunización recibida en la semana 8.

En la semana 16 se comparó las medianas de los tres grupos, como resultado existió una diferencia significativa ($p<0.05$) entre los grupos 1 y 3, y los grupos 2 y 3, pero no entre los grupos 1 y 2. En esta semana los TA de los grupos 1 y 2, fueron mayor a los del grupos 3, debido probablemente, a la inmunización recibida en la semana 12. El grupo 1 después de recibir su segunda inmunización tuvo un elevado incremento de sus TA en comparación al grupo 2, que sólo había recibido una inmunización, pero esta diferencia entre los dos grupos no fue significativa ($p>0.05$).

En la semana 20 la diferencia fue significativa ($p<0.05$), cuando se comparó las medianas entre los grupos 1 y 3, y los grupos 2 y 3. En esta semana los grupos 1 y 2 están con sus TA muy elevado, a diferencia del grupo 3, que no había recibido ninguna inmunización, presentó TA bajos. El grupo 2 después de recibida la segunda inmunización en la semana 16, logro un mayor incremento en sus TA que del grupo 1, pero esta diferencia entre los dos grupos no fue significativa ($p>0.05$).

Cuadro N °2. Evaluación del PP de los títulos de anticuerpos Anti-Tsol18 en los grupos de cerdos procedentes de cerdas inmunizadas.

% positividad en diferentes semanas		Edad de muestreo de muestreo en los diferentes grupos				
		Semana 2	Semana 8	Semana 12	Semana 16	Semana 20
Grupos provenientes de cerdas inmunizadas	G1	41.8	10.6	19.7	78.1	64.6
	G2	35.2	8.6	6.7	44.5	103.0
	G3	45.9	12	6	4.7	4.9

En el cuadro Nro. 3 representa los cuadros de contingencia en diferentes semanas, se analizó en cada grupo de cerdos el porcentaje de seropositivos y seronegativos a los TA. Al inicio del estudio, los grupos 1, 2, y 3 fueron seropositivos a anti-Tsol18 y el grupo 4, seronegativo. Los

grupos que fueron seropositivos cambian a seronegativos, esto ocurre en el transcurso de las semanas; y sólo los cerdos del grupo 1 y 2 que recibieron inmunización, volvieron a ser seropositivos. Este porcentaje de positividad y negatividad están en relación a la DO definido por el punto de corte “cutt-off”, que los identificó de acuerdo al nivel de sus TA anti-Tsol18, cuando los valores estuvieron en su límite superior fueron identificados como positivos y en el límite inferior, como negativos.

Cuadro N° 3. Identificación de cerdos positivo/negativo en cada grupo en relación a sus títulos de anticuerpos en diferentes semanas.

Cerdos positivos/negativos a anticuerpos Anti-Tsol18 en diferentes semanas		Grupos de cerdos				Total
		Cerdos procedentes de CI			Cerdos procedentes de CNI	
		G1	G2	G3	G4	
Semana 2	Negativo	0 0.00%	0 0.00%	1 9.09%	16 100.00%	17 34.00%
	Positivo	11 100.00%	12 100.00%	10 90.91%	0 0.00%	33 66.00%
Semana 8	Negativo	6 54.55%	9 75.00%	7 63.64%	16 100.00%	38 76.00%
	Positivo	5 45.45%	3 25.00%	4 36.36%	0 0.00%	12 24.00%
Semana 12	Negativo	2 18.18%	11 91.67%	11 100.00%	16 100.00%	40 34%
	Positivo	9 81.82%	1 8.33%	0 0.00%	0 0.00%	10 66%
Semana 16	Negativo	0 0.00%	0 0.00%	11 100.00%	16 100.00%	27 80.00%
	Positivo	11 100.00%	12 100.00%	0 0.00%	0 0.00%	23 20.00%
Semana 20	Negativo	0 0.00%	0 0.00%	11 100.00%	15 93.75%	26 52.00%
	Positivo	11 100.00%	12 100.00%	0 0.00%	1 6.25%	24 48.00%

En el cuadro Nro. 4 Los datos de cada grupo fueron analizados con la prueba Exacta de Fisher para tablas de 2x3 en diferentes semanas; Para esta prueba los datos del grupo 4 (control negativo) no fueron considerados en la evaluación debido a que estos datos no fueron homogéneos a los otros grupos, porque procedían de CNI, por lo que mantuvieron constantes sus TA durante todo el estudio (seronegativo). En este estudio sólo fueron considerados los datos de los grupos 1, 2 y 3. Se evaluó la positividad y negatividad de cada grupo a las 2, 8, 12, 16 y 20 semanas.

Los resultados de la semana 2 y 8 (cuadro N° 4), la diferencia fueron no significativas ($P>0.05$) entre los tres grupos; por lo que las variables fueron independientes. La primera toma de muestra realizada en la semana 2; el 100% (11/11) de grupo 1, 100%(12/12) de grupo 2 y un 90.91% (10/11) de grupo 3 (control positivo) fueron identificados como seropositivos a anti-Tsol18. En la segunda toma de muestra realizada en la semana 8; el 45.45%(5/11) del grupo 1, 25%(3/11) del grupo 2 y el 36.36%(4/11) del grupo 3 fueron identificados seropositivos.

Los resultados de las semanas 12, 16 y 20 (cuadro N° 4), la diferencia fueron significativas ($P<0.05$); por lo que las variables fueron dependientes. En la tercera toma de muestra realizada en la semana 12, el 81.82%(9/11) de grupo 1 y el 8.33%(1/12) del grupo 2, fueron identificados como seropositivos; y el 100% del grupo 3 fueron seronegativos. El incremento de seropositivos del grupo 1, fue probablemente, por el efecto de la primera inmunización de los cerdos recibida en la semana 8. En la cuarta toma de muestra realizado en la semana 16, se logró el 100% (11/11) de seropositivos en el grupo 1, probablemente se deba al efecto de la segunda inmunización recibida en la semana 12; a diferencia del grupo 2 que logro el 100%(11/11) de seropositivos posterior a su primera inmunización recibida en la semana 12. El 100% de los cerdos del grupo 3 se mantuvieron seronegativo. En la quinta toma de muestra realizado en la semana 20; el 100% (11/11) del grupo 1 y 100% (11/11) del grupo 2 se mantuvieron seropositivos al 100%, debido sus niveles altos de sus TA. El grupo 2 posterior a su segunda inmunización realizado en la semana 16, no sufrió alteración alguna, y los cerdos del grupo 3 (control) es se mantuvieron 100% negativo debido a que no recibieron ninguna inmunización.

Cuadro N° 4. Evaluación de cerdos vacunados/no vacunados procedentes de cerdas inmunizadas identificando a los cerdos positivo/negativo en diferentes semanas.

Positividad y Negatividad de los Títulos Anti-Tsol18		Cerdos procedentes de cerdas inmunizadas			Total
		cerdos inmunizados		Cerdos no inmunizados	
		G1	G2	G3	
Semana 2	Negativo	0 0.00%	0 0.00%	1 9.09%	1 2.94%
	Positivo	11 100.00%	12 100.00%	10 90.91%	33 97.06%
Semana 8	Negativo	6 54.55%	9 75.00%	7 63.64%	22 64.71%
	Positivo	5 45.45%	3 25.00%	4 36.36%	12 35.29%
Semana 12	Negativo	2 18.18%	11 91.67%	11 100.00%	24 70.59%
	Positivo	9 81.82%	1 8.33%	0 0.00%	10 29.41%
Semana 16	Negativo	0 0.00%	0 0.00%	11 100.00%	11 32.35%
	Positivo	11 100.00%	12 100.00%	0 0.00%	23 67.65%
Semana 20	Negativo	0 0.00%	0 0.00%	11 100.00%	11 32.35%
	Positivo	11 100.00%	12 100.00%	0 0.00%	23 67.65%

V. DISCUSIÓN

Para controlar y erradicar la cisticercosis, se han realizado diferentes acciones como tratamientos a las personas que son portadores de la tenia adulta, educación y sanidad en zonas endémicas. También se ha realizado tratamiento a la población porcina. Con estas acciones sólo se ha logrado interrumpir por un tiempo la infección, pero genera un alto costo económico y al no seguir efectuando estas acciones, la parasitosis se extiende con más fuerza siendo muy difícil poder controlarlo (González *et al.*, 2003). Las medidas actuales que han sido utilizadas para el control adecuado de la cisticercosis en cerdos y humanos no han sido de gran impacto en la erradicación del parásito. Con el uso de una vacuna se podría prevenir la infección en los cerdos; su gran eficacia lograría un buen control y la posible erradicación del parásito, además de ser fácil el manejo que causa menos estrés en los cerdos.

Los primeros indicios fue desarrollar una vacuna con los antígenos de oncósferas de *T. solium*, que llegaron a reportar una gran eficacia al proteger al cerdo en un 83-89% (Plancarte *et al.*, 1999). Las oncósferas poseen diferentes antígenos de protección, uno de estos antígenos protector es el antígeno Tsol18 que ha presentado una alta eficacia al ser utilizado como antígeno recombinante; usado como vacuna ha logrado una protección muy alta en los cerdos (González *et al.*, 2005).

La función del antígeno Tsol18 en las oncósfera es permitir que sobreviva el parásito al penetrar la mucosa intestinal y se pueda establecer en el músculo esquelético del hospedero infectado. El parásito no tendría la capacidad de sobrevivir si la respuesta inmune afecta

específicamente al antígeno Tsol18 (Gauci *et al.*, 2006). La vacuna con el antígeno recombinante Tsol18 ha demostrado ser eficaz en la protección contra la larvas de *T. solium*. Existen trabajos realizados en grupos de cerdos que fueron inmunizados antes de ser infectados. A la necropsia no había presencia de quistes viables. Este resultado es un indicador positivo, por lo que su efectividad del antígeno evita una infección hasta un 100%, corroborado a nivel experimental y de campo, por lo que se puede presagiar que pronto se desarrollaría una vacuna comercial que esté al alcance de todos los productores de cerdos (Flisser *et al.*, 2004).

Es viable la transferencia de anticuerpos maternos contra parásitos hacia las crías, mediante la inmunización en la etapa de gestación con antígenos derivados de oncosferas de las tenias. Esta transferencia se ha logrado la protección en corderos contra la larva de la *T. hydatigena* (Gemmell *et al.*, 1969) y la *T. ovis* (Heath *et al.*, 1979), también se ha logrado la protección de los terneros contra la larva de la *T. saginata* (Lloyd, 1979) y en las crías de ratas contra la larva de la *T. taeniaeformis* (Leidt y Williams, 1974).

En nuestro trabajo las cerdas gestantes inmunizadas con la vacuna Tsol18IIL, lograron transferir anticuerpos maternos antiTsol18 hacia sus lechones. Estos anticuerpos se expresaron en altos niveles de IgG. La transferencia de esta inmunidad se dio a través del calostro, debido a que la placenta de la cerda es epiteliocorial y evita el paso de los anticuerpos maternos del útero hacia el feto (Yano *et al.*, 1988, Tizard, 2009). Esto se pudo comprobar al detectar la IgG en los sueros de los lechones a las 3 horas de haber recibido el calostro (Jensen *et al.*, 2001). En cerdas infectadas con cisticercosis, se pudo comparar los niveles de anticuerpos en sus lechones con los de su calostro. Esta comparación se realizó a través de la IgG que representó en un 80% más que las IgM e IgA (González *et al.*, 1999).

El incremento de la IgG fue variable entre los grupos inmunizados con la vacuna Tsol18 IIL. La causa de la variación está relacionada con el tiempo de vacunación de los lechones, debido a que los anticuerpos maternos interfieren en contra de la eficacia de la vacuna, aunque el animal está vacunado puede quedar desprotegido (Klinkenberg *et al.*, 2002; Vega *et al.*, 2011). De los grupos de lechones que fueron inmunizados, se infiere que los animales del grupo 1 sufrieron la interferencia de los anticuerpos maternos posterior a su primera inmunización realizado en la semana 8, el cual evitó que el incremento de anticuerpos fuese alto, a diferencia del grupo 2 que tuvo un incremento muy alto después de su primera inmunización en la semana 12.

La interferencia de los anticuerpos derivados de la madre evita el efecto de la vacuna en los animales jóvenes, debido a la existencia de la supresión generalizada en la respuesta de los linfocitos B y T realizado por los factores inmunosupresores del calostro como el cortisol, la histamina y citocinas (Kitching y Salt, 1995). Estos efectos causan que los programas de vacunación varíen para el control adecuado en la infección con cisticercosis. La interferencia en el efecto de la vacuna ha sido demostrada en otras enfermedades virales como en la fiebre aftosa en terneros que fue hasta los 4 - 5 meses de edad y en cerdos, hasta las 8 semanas de vida (Kitching y Salt, 1995) y también en enfermedades con parásitos, esta interferencia evitó que la inmunización activa tuviera éxito contra larvas de *T. ovis* antes 18 semanas de edad (Heath *et al.*, 1979).

La predicción del momento exacto de la pérdida de la inmunidad maternal fue difícil, por lo general en estos casos se utilizan de dos a más dosis (Tizard, 2009). En nuestro estudio utilizamos la segunda inmunización en los cerdos procedentes de CI de los grupos 1 y 2, logrando un incremento muy marcado en sus niveles de anticuerpos. El grupo 2 su incrementó niveles de anticuerpos fue muy alto con la segunda inmunización en la semana 16. Existe la probabilidad que el grupo 1 haya sufrido los efectos de los anticuerpos maternos en la primera inmunización, por lo que en la segunda inmunización en la semana 12 logró incrementar sus niveles de anticuerpos, pero no fue muy alto como se esperaba. En el trabajo realizado por Flisser *et al.*, (2004), la segunda inmunización con la vacuna Tsol18 en los cerdos, logró una protección del 100% contra la larva de la *T. solium*, comprobando que la revacunación produce una nueva alza de anticuerpos. Por lo que es recomendado el uso de dos dosis de vacuna para inducir una fuerte respuesta neutralizante debido a que pueden presentar elevado TA derivados de la madre (Fort *et al.*, 2009).

Con el análisis estadístico, el grupo 2 obtuvo un mayor valor en la producción de anticuerpos anti-tsol18 al final del estudio en relación al grupo 1, pero no tuvo una diferencia significativa, debido a que los lechones del grupo 2 fueron vacunados después en la semana 12, cuando probablemente el efecto de los anticuerpos maternos estuvieron en una mínima actividad, siendo su interferencia muy mínima contra el efecto de la vacuna Tsol 18 IIL. Los datos de los lechones del grupo 4 que preceden de CNI, no fueron considerados para en el análisis debido a que eran de diferente procedencia, este grupo dentro del estudio fue considerado como un control negativo para evaluar la calidad de la vacuna Tsol18IIL.

Los lechones de los grupos 1, 2 y 3 procedentes de CI con la vacuna Tsol18 IIL fueron identificados como seropositivos a anti Tsol18 presentes como anticuerpos maternos con altos

niveles de IgG. Los lechones del grupo 4 (control negativo) procedentes de CNI fueron seronegativos por sus niveles bajos de IgG, esto se relaciona con la ausencia de anticuerpos maternos anti-Tsol18, por lo que no fueron considerados sus datos para el análisis.

Los lechones seropositivos del grupo 3 (control positivos) fueron identificados como seronegativos desde la semana 12 hasta el final del estudio, debido al descenso en sus niveles de IgG. Estos anticuerpos adquiridos pasivamente, no mantuvieron constantes sus niveles de anticuerpos debido a los procesos metabólicos que sufrieron. El tiempo del descenso puede tardar en disminuir dependiendo de la concentración inicial de anticuerpos en cada animal (Tizard, 2009). También se relaciona que la disminución durante los primeros 70 días de vida en el cerdo se debe al aumento del volumen del plasma, que puede inducir a un error en la estimación con el tiempo de persistencia de los anticuerpos (Kitching y Salt, 1995; Heath *et al.*, 1979).

El descenso de la IgG al más bajo nivel ocurrió en algunos lechones de los grupos 1 y 2, identificándolos como seronegativos, posterior a su inmunización con la vacuna Tsol18 IIL, se les identificó como seropositivo posiblemente por el incremento en sus niveles de IgG. Todos los lechones del grupo 2 fueron identificados como seropositivos después de recibir su primera inmunización en la semana 12, a diferencia de los lechones del grupo 1 que posterior a sus dos inmunizaciones recibidas en la semana 8 y 12 recién pudieron ser identificados a todos los lechones como seropositivos.

Se infiere que la interferencia de los anticuerpos maternos contra el antígeno Tsol18 fue aproximadamente hasta las 8 y 12 semanas de vida. La vacunación a temprana edad permite que los anticuerpos maternos interfieran en el efecto de la vacuna. El tiempo de persistencia tuvo relación con los resultados hallados por González *et al.*, 1999 en lechones de cerdas con cisticercosis, donde los niveles de anticuerpos maternos disminuyeron hasta la semana 8 y 12 de vida. En otros estudios realizados con lechones procedentes de zonas endémicas, los anticuerpos maternos eran detectables en los sueros hasta 2 meses de edad (Sikasunge *et al.*, 2009) y cuando los lechones eran desafiados con huevos de *T. solium*, estos anticuerpos les conferían protección hasta los 7 semanas de vida (De Aluja *et al.*, 1996).

Los lechones del grupo 4 fueron identificados como seronegativos al inicio de la investigación hasta la semana 16, pero cuando fue analizado con los cuadros de contingencia en la semana 20, fue identificado un lechón como seropositivo a antiTsol18 sin haber recibido inmunización alguna. Se sospecha de que haya producido fallo o errores técnicos durante la recogida o manipulación de muestras de sangre, también es probable la contaminación cruzada entre muestras de un suero positivo y negativo.

Un lechón del grupo seropositivos, fue identificado como seronegativo al inicio del estudio a pesar que procedía de una cerda vacunada. Este resultado negativo se le pudo atribuir a las siguientes causas: Falla en producir insuficiente o baja calidad del calostro debido a los nacimientos prematuros de los animales, fallo en la ingestión del calostro al ser una especie que tiene múltiples partos, no se proporciona la misma cantidad de calostro de acuerdo a su número de crías; y fallo en la absorción intestinal del lechón a pesar de haber recibido la ingesta adecuada del calostro (Tizard, 2009).

Esta persistencia de los anticuerpos anti-Tsol18 derivados de la madre podría afectar en la implementación de un programa de vacunación en lechones procedentes de zonas endémicas con cisticercosis. En nuestro resultado la persistencia de estos anticuerpos duran hasta las 8 y 12 semanas, pero aún no sabemos si brindan una protección adecuada y hasta que tiempo pueden proteger a una camada si fuesen desafiados con oncosferas de *T. solium*, solo se ha podido comprobar en otros estudios que la protección en crías de cerdas infectadas duran hasta las 7 semanas de vida. Todavía se tendrían que realizar trabajos desafiando a los lechones después de recibir la vacuna Tsol18IIL, en una investigación controlada para posteriormente aplicarlo en el campo.

VI. CONCLUSIONES

La inmunización con la vacuna Tsol18 IIL en cerdas gestantes induce la transmisión de anticuerpos maternos como anti-Tsol18 hacia los lechones expresado con el nivel de la IgG.

Los anticuerpos maternos tienen su mayor actividad y efecto contra el antígeno Tsol 18 aproximadamente hasta las 8 semanas de vida, después su efecto empieza a declinar.

La actividad mínima de los anticuerpos derivados de la madre se encuentra entre la semana 8 y 12 de edad, donde existe la posibilidad que los anticuerpos maternos tengan una interferencia mínima en el efecto de la vacuna Tsol18 IIL.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Acha PN, Szyfres B. 2003. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. Vol. III. Washington D. C.: OPS. p 171-179
2. Assana E, Kyngdon CT, Gauci CG, Geerts S, Dorny P, De Deken R, Anderson GA, Zoli A, Lightowlers MW. 2010. Elimination of *Taenia solium* transmission to pigs in a field trial of the TSOL18 vaccine in Cameroon. Int. J. Parasitol. 40: 515–519.
3. Barriga O. 2002. Las Enfermedades Parasitarias de los Animales Domésticos en la América Latina. Santiago de Chile: Germinal. p 164-166.
4. Cai X, Yuan G, Zheng Y, Luo X, Zhang S, Ding J., Jing Z., Lu C. Effective production and purification of the glycosylated Tsol18 antigen, which is protective against Pig cysticercosis. Infect Immun 76(2): 767-70.
5. Ccama A. 2001. Persistencia de anticuerpos maternos contra cisticercosis porcina y su efecto sobre el EITB. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 54 p.

6. Cordero del campillo M, Hidalgo-Argüello M. 1999. Cisticercosis (*C. cellulosae*). En: Parasitología veterinaria. Madrid-España: McGraw-Hill. p 493-495.
7. De Aluja A, Villalobos ANM, Plancarte A, Rodarte LF, Hernández M, Sciutto E. 1996. Cysticercosis in pigs: characteristics of the infection and antibody response. *Veterinary Parasitology* 76: 71–79
8. Del Brutto OH. 1997. Neurocysticercosis. *Curr Opin Neurol* 10: 268–72.
9. Dempster RP, Harrison GBL, Berridge MV. 1995. Maternal transfer of protection from *Echinococcus granulosus* infection in sheep. *Veterinary Science* 58: 197–202.
10. Deza L. 1987. Hipólito Unanue y la Neurocisticercosis. *Rev. Neuro-psiquiatría* 50: 77-82
11. Engels D, Urbani C, Belottoc A, Meslina F, Savioli L. 2003. The control of human (neuro) cysticercosis: Which way forward?. *Acta Tropical* 87: 177-182.
12. Flisser A, Gauci C, Zoli A, Martinez-Ocana J, Garza-Rodriguez A, Dominguez-Alpizar J, Maravilla P. 2004. Induction of protection against porcine cisticercosis by vaccination with recombinant oncosphere antigens. *Infect immun* 72: 5292-7.
13. Flisser A, Rodriguez-Canul R, Willingham A. 2006. Control of the taeniosis/cysticercosis complex: Future developments. *Vet Parasitol* 139: 283-92.
14. Fort M, Sibila M, Pérez-Martín E, Nofrarías M, Mateu E, Segalés J. 2009. One dose of a porcine circovirus 2 (PCV2) sub-unit vaccine administered to 3-week-old conventional piglets elicits cell-mediated immunity and significantly reduces PCV2 viremia in an experimental model. *Vaccine* 27(30): 4031–4037

15. Gauci CG, Flisser A, Lightowlers MW. 1998. *Taenia solium* oncosphere protein homologous to host-protective *Taenia ovis* and *Taenia saginata* 18 kDa antigens. Int. J. Parasitol 28: 757–760.
16. Gauci CG, Lightowlers MW. 2001. Alternative splicing and sequence diversity of transcripts from the oncosphere stage of *Taenia solium* with homology to the 45W antigen of *Taenia ovis*. Molecular and Biochemical Parasitology 112: 173–181.
17. García HH, Martinez M, Gilman R, Herrera G, Tsang VC, Pilcher JB, Diaz F, Verastegui M, Gallo C, Porras M. 1991. Diagnosis of cysticercosis in endemic regions. Lancet. 338: 549-51.
18. García HH, González AE, Del Brutto OH, Tsang VC, Llanos-Zavalaga F, Gonzalez G, Romero J, Gilman RH. 2007. Strategies for the elimination of taeniasis/cisticercosis. for The Cysticercosis Working Group in Peru Journal of the Neurological Sciences 262: 153–157.
19. Gauci CG, Ito A, Lightowlers MW. 2006. Conservation of the vaccine antigen gene, Tsol18, among genetically variant isolates of *Taenia solium*. Mol. Biochem. Parasitol 146:101-104.
20. García HH, González AE, Rodríguez S, González G, Llanos-Zavalaga F, Tsang V, Gilman R. 2010. Epidemiología y control de la cisticercosis en el Perú. Rev Perú Med Exp Salud Pública. 27(4): 592 - 597.
21. Gavidia CM, Verástegui MR, García HH, López T, Tsang VC, Pan W, Gilman RH, González AE. 2013. Relationship between Serum antibodies and *Taenia solium* larvae burden in pigs raised in field conditions. PLoS desd Trop Dis 7 (5): e2192.
22. Gemmell M A, Blundell-hasell SK, Macnamara FN. 1969. Immunological responses of the mammalian host against tapeworm infections IX: The transfer via eolostum of immunity to *Taenia hydatigena*. Experimental Parasitology 26: 52-57.

23. González AE. 1993. Evaluación del diagnostico de la cisticercosis porcina por los métodos de electroinmunotransferencia (EITB), ELISA y Examen de lengua. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 22 p.
24. González AE, Verástegui M, Noh JC, Gavidia C, Falcón N, Bernal T, García HH, Tsang VC, Gilman RH, Wilkins PP. 1999. Persistence of passively transferred antibodies in porcine *Taenia solium* cysticercosis. *Veterinary Parasitology* 86: 113–118
25. González AE, García HH, Gilman R, Tsang V. 2003. Control of *Taenia solium*. *Acta Trop* 87: 103-9.
26. González AE. 2002. Perspectivas y Prioridades de Investigación en Cisticercosis porcina. *CSI –UNMSM Boletín* 47: 4 – 7.
27. González AE, Gauci CG, Barber D, Gilman RH, Tsang VC, García HH, Verástegui M, Lightowers MW. 2005. Vaccination of pigs to control human neurocysticercosis. *Am J Trop Med Hyg* 72: 837-839.
28. Grove D. 1990. *A history of human helminthology*. Wallingford: CAB International. p 355-377.
29. Heath DD, Yong WK, Osborn PJ, Parmeter SN, Lawrence SB, Twaalfhoven H. 1979. The duration of passive protection against *Taenia ovis* larvae in lambs. *Parasitology* 79: 177-182.
30. Hiepe Th, Lucius R, Gottstein B. 2011. *Parasitología General: Con principios de inmunología, diagnostico y lucha antiparasitaria*. Zaragoza: Editorial Acribia. p 151-154.
31. Huerta H, De Aluja AS, Fragoso G. 2002. Synthetic peptide vaccine against *Taenia solium* pig cysticercosis: successful vaccination in controlled field trial in rural Mexico. *Vaccine*. 20: 262–266.

32. Jayashi CM, Kyngdon CT, Gauci ChG, González AE, Lightowlers MW. 2012. Successful immunization of naturally reared pigs against porcine cysticercosis with a recombinant oncosphere antigen vaccine. *Vet Parasitol* 188(3-4): 261–267.
33. Jensen AR, Elnif, J, Burrin DG, Sangild PT, 2001. Development of intestinal immunoglobulin absorption and enzyme activities in neonatal pigs is diet dependent. *Journal of Nutrition* 131: 3259–3265.
34. Johnson KS, Harrison GB, Lightowlers M. 1989. Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. *Nature* 338: 585–587
35. Kassai T. 1998. *Helmintologia veterinaria*. Zaragoza: Acribia Editorial. p 39-40.
36. Kitching RP, Salt JS. 1995. The interference by maternally-derived antibody with active immunization of farm animals against foot-and-mouth disease. *br. vet. j.* 151: 379
37. Klinkenberg D, Moormann RJM, De Smit AJ, Bouma A, De Jong MCM. 2002. Influence of maternal antibodies on efficacy of a subunit vaccine: Transmission of classical swine fever virus between pigs vaccinated at 2 weeks of age. *Vaccine* 20: 3005–3013.
38. Laclette JP, Shoemaker CB, Richter D, Arcos L, Pante N, Cohen C, Bing D, Nicholson-Weller A. 1992. Paramyosin inhibits complement C1. *J Immunol* 148(1): 124-8.
39. Larralde C, De Aluja A. 2006. *Cisticercosis; Guía para profesionales de la salud*. 1ª ed. México: Fundación Mexicana para la Salud. p 19-22.
40. Leidt RW, Williams JF, 1974. The immunological response of the rat to infection with *Taenia taeniaeformis*. *Immunology* 27: 195.
41. Lightowlers MW, Lawrence CG, Gauci CG. 1996. Vaccination against hydatidosis using a defined recombinant antigen. *Parasite immunol* 18: 457-462.

42. Lightowlers MW. 1999. Eradication of *Taenia solium* cysticercosis: A role for vaccination of pigs. *Int J. Parasitol* 29: 811-817.
43. Lightowlers MW. 2006. Cestode vaccines: Origins, current status and future prospects. *Parasitology*. 133: S27-42.
44. Lightowlers MW. 2010. Eradication of *Taenia solium* cysticercosis: A role for vaccination of pigs. *International Journal for Parasitology* 40(10): 1183–1192.
45. Lloyd S. 1979. Homologous and heterologous immulsation against the metacestodes of *Taenia saginata* and *Taenia taeniaeformis* in cattle and mice. *Zeitschrift far Parasitenkunde* 60: 87-96.
46. Molinari JL, Tato P, Lara-Aguilera R, White AC Jr. *J Parasitol*. 1993. Effects of serum from neurocysticercosis patients on the structure and viability of *Taenia solium* oncospheres. *J parasitol* 79(1):124-7.
47. Pal D, Carpio A, Sander J. 2000. Neurocysticercosis and epilepsy in developing countries. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 68:137–143.
48. Parija SC, Raman GA. 2011. Anti- *Taenia solium* larval stage Ig G antibodies in patients with epilptic seizures. *Trop Parasitol* 1(1): 20-25.
49. Pathak KM, Gaur SN. 1990. Immunization of pigs with culture antigens of *Taenia solium*. *Vet. Parasitol* 34:353-356.
50. Plancarte A, Flisser A, Gauci CG, Lightowlers MW. 1999. Vaccination against *Taenia solium* cysticercosis in pigs using native and recombinant oncosphere antigens. *Int. J. parasitol* 29: 643-647.

51. Quiroz H. 2005. Parasitología y Enfermedades Parasitarias de Animales Domésticos. Editorial Limusa. Mexico D.F.: Editores Balderas. p 335-365.
52. Rajikotia Y, Lescano AG, Gilman RH, Cornejo C, Garcia HH. 2007. Economic burden of neurocysticercosis: results from Perú. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 101: 840-846.
53. Rodriguez S, Wilkins P, Dorny P. 2012. Immunological and molecular diagnosis of cysticercosis. Pathogens and Global Health 106(5): 286-298.
54. Roman G, Sotelo J, Del Brutto O, Flisser A, Dumas M, Wadia N, Botero D, Cruz M, Garcia, H, De Bittencourt PR, Trelles L, Arriagada C, Lorenzana P, Nash TE, Spina-Franca A. 2000. A proposal to declare neurocysticercosis and international reportable disease. Bull. WHO 78: 399-406.
55. Salinas R, Prasad K. 2000. Drugs for treating neurocysticercosis (tapeworm infection of the brain). Cochrane Database Syst Rev 2: CD000215.
56. Sarti E. 1997. La teniasis y cisticercosis por *Taenia solium*. Salud pública 39: 3
57. Sarti E, Rajshekhar V. 2003. Measures for the prevention and control of *Taenia solium* taeniosis and cysticercosis. Acta Tropica 87: 137-143
58. Schantz PM, Cruz M, Sarti E, Pawlowski Z. 1993. Potential eradicability of taeniosis and cysticercosis. Bull. Pan Am. Health Organ 27: 397-403.
59. Sciutto E, Fragoso G, Fleury A, Laclette JP, Sotelo J, De Aluja A, Vargas L, Larralde C. 2000. *Taenia solium* disease in humans and pigs: an ancient parasitosis disease rooted in developing countries and emerging as a major health problem of global dimensions. Microbes Infect 2(15):1875-90.

60. Sikasunge Ch, Phiri IK, Willingham AL, Johansen MV. 2010. Dynamics and longevity of maternally-acquired antibodies to *Taenia solium* in piglets born to naturally infected sows. *Veterinary Journal* 184(3): 318-321.
61. Suquet C, Grben-Edwards C, Wes Leid R. 1984. Isolation and partial characterization of a *Taenia taeniaeformis* metacestode proteinase inhibitor. *J Parasitol* 14(2):165–172
62. Tizard IR. 2009. Introducción a la Inmunología Veterinaria. 8a ed. España: Elsevier. p 223-234.
63. Tsang VC, Brand J., Boyer AE. 1989. A enzyme-linked immunoelectrotransfer blot assay and glycoprotein antigens for diagnosing human cysticercosis (*Taenia solium*). *J Infect Dis* 159: 50-59.
64. Vega E, Barrera M, Abeledo MA, Rodríguez M, Castell S, Frías MT. 2011. Maternal derived antibodies against classical swine fever virus in piglets from sows immunized with a vaccine candidate of subunit protein (e2). *rev salud anim.* 33: 1
65. Wang QM, Sun SH, Hu ZL, Wu D, Wang ZC. 2003. Immune response and protection elicited by DNA immunisation against *Taenia* cysticercosis. *Vaccine* 21:1672-1680.
66. White AC. 1997. Neurocysticercosis: a major cause of neurological disease worldwide. *Clin Infect Dis* 24: 101-15.
67. White AC. 2000. Neurocysticercosis: updates on epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and management. *Annu Rev Med* 51: 187-206.
68. World Health Organization. 1983. Guidelines for surveillance, prevention and control of taeniasis/cysticercosis: WHO. document VPH/83. 49.
69. World Health Organization. 1998. Global disease elimination and eradication as public health strategies: WHO. Suppl 2: 89-93.

70. World Health Organization. 2005. Guidelines for the surveillance, prevention and control of taeniosis/cysticercosis: Paris. OIE Technical Report Series. p 8-9.
71. Wright P. F., Nilsson E., Van Rooij E. M., Lelenta M., Jeggo M. H. 1993. Standardization and validation of enzyme-linked immunosorbent assay techniques for the detection of antibody in infectious disease diagnosis. *Rev. Sci. Technol.* 12 (2): 435-450.
72. Yano K, Hashimoto Y, Kitagawa H, Kon Y, Kudo N. 1988. Histological and immunohistochemical studies on the localization of immunoglobulins in porcine placenta. *Japanese Journal of Veterinary Research* 36: 205-221.

VIII. APENDICE

Apéndice 1

Los PP de cada cerdo.

ID	SEXO	MARRANA	TRATAMIENTO	PP1(2S)	PP2(8S)	PP3(12S)	PP4(16S)	PP5(20S)
1	0	0	4	4.436	4.267	4.548	5.334	4.660
2	1	0	4	4.548	4.492	5.053	4.492	6.232
3	0	0	4	6.401	3.987	3.930	4.997	4.885
4	0	0	4	8.085	8.703	11.173	11.847	15.609
5	0	1	2	34.138	7.805	5.727	45.649	124.424
6	0	1	1	24.705	5.446	25.379	128.804	120.270
7	0	1	3	30.713	8.478	4.885	4.716	4.716
8	0	1	2	36.272	9.489	5.727	23.807	73.161
9	0	1	1	26.670	7.580	16.901	75.912	64.570
10	1	1	3	37.486	6.885	6.066	5.574	7.869
11	1	1	1	30.710	7.923	19.672	39.235	28.852
12	1	1	2	29.945	7.104	7.869	60.000	112.295
13	0	1	3	45.902	12.077	10.273	5.519	6.066
14	0	1	2	45.246	9.563	22.459	19.071	61.858
15	1	0	4	7.104	4.863	4.863	4.481	4.536
16	1	0	4	4.754	4.973	4.645	6.066	7.268

17	1	0	4	5.847	4.754	5.082	5.956	5.301
18	1	0	4	8.962	4.645	4.426	4.208	4.754
19	1	1	3	12.646	4.487	4.312	4.371	4.312
20	0	1	2	21.503	6.585	4.545	50.117	96.737
21	1	1	1	47.378	10.606	16.725	78.147	50.991
22	0	1	3	41.026	13.520	8.275	6.993	6.643
23	1	1	2	48.135	11.713	6.119	34.848	93.823
24	1	1	1	52.564	16.259	17.308	39.860	21.853
25	0	1	3	47.960	9.091	5.536	4.545	5.012
26	1	1	2	26.049	7.692	6.177	15.734	63.986
27	0	1	3	57.168	12.471	6.352	5.769	6.760
28	1	0	4	4.249	3.996	7.132	4.047	4.047
29	1	0	4	3.996	4.198	3.996	3.996	4.906
30	0	1	1	15.073	4.906	9.105	34.143	15.731
31	1	1	3	15.529	5.867	4.502	4.401	3.996
32	0	1	2	19.120	5.564	8.447	96.055	120.738
33	0	1	1	21.295	5.969	7.739	49.621	36.267
34	1	1	2	23.369	5.969	4.249	18.209	63.328
35	1	0	4	5.513	3.591	3.389	2.934	3.338
36	0	0	4	4.704	4.148	3.945	5.109	4.097
37	1	1	1	41.757	15.142	57.313	123.618	113.953

38	0	1	2	37.623	14.832	7.132	43.307	117.158
39	1	1	1	50.129	13.953	45.220	101.809	87.545
40	0	1	3	52.558	19.897	5.323	4.341	4.444
41	1	0	4	3.204	5.943	9.974	11.318	5.065
42	1	0	4	2.946	4.083	4.755	4.444	4.548
43	1	0	4	6.305	6.512	4.858	4.496	4.134
44	0	0	4	5.013	4.134	4.083	4.651	4.083
45	1	1	1	83.773	43.204	69.664	127.183	130.336
46	0	1	2	59.822	15.192	8.848	52.532	109.182
47	0	1	1	54.090	19.588	38.898	108.625	102.337
48	0	1	2	63.550	21.091	8.347	58.041	113.912
49	0	1	3	59.432	18.976	7.457	4.619	4.897
50	1	1	3	63.940	14.413	6.121	5.398	4.563

Sexo: Macho = 1

Hembra=0

Marrana: Vacunada=1

No Vacunada=0

Apéndice 2

Prueba de Shapiro-wilk

Variable	N de cerdos	W	V	Z	Prob>Z
Semana 2	50	0.01023	3.799	2.846	0.00221
Semana 8	50	0.73517	12.455	5.379	0.00000
Semana 12	50	0.57229	20.115	6.401	0.00000
semana 16	50	0.75120	11.701	5.246	0.00000
Semana 20	50	0.75948	11.311	5.173	0.00000

Apéndice 3

La prueba Kruskal-Wallis en la semana 12

Grupos	N de cerdos	Suma de rangos	Promedio de rangos
1	11	306	27.82
2	12	171	14.25
3	11	118	10.73

- Chi-cuadrado (sin corregir por lazos) = 18.176 con 2 df ($p = 0,00011$)
- Chi-cuadrado (corregido por lazos) = 18.179 con 2 df ($p = 0,00011$)

Comparaciones de las múltiples entre los grupos (El p-valor de significación ajustado es 0,008333)

- Ho: Tratamiento 1 y Tratamiento 2

Diferencia en la suma de rangos = 13,57 Valor crítico = 9.95 Prob = 0.000549 (S)

- Ho: Tratamiento 1 y Tratamiento 3

Diferencia en la suma de rangos = 17.09 Valor crítico = 10,17 Prob = 0.000028 (S)

- Ho: Tratamiento 2 y Tratamiento 3

Diferencia en la suma de rangos = 3,52 Valor crítico = 9.95 Prob = 0.198369 (NS)

Apéndice 4

La prueba Kruskal-Wallis Prueba de rangos en igualdad de poblaciones en la semana 16

Grupos	N de cerdos	Suma de rangos	Promedio de rangos
1	11	290	26.36
2	12	239	19.92
3	11	66	6

- Chi-cuadrado (sin corregir por lazos) = 24.091 con 2 df ($p = 0,00010$)
- Chi-cuadrado (corregido por lazos) = 24.091 con 2 df ($p = 0,00010$)

Comparaciones de las múltiples entre los grupos (El p-valor de significación ajustada es 0,008333)

- Ho: Tratamiento 1 y Tratamiento 2

Diferencia en la suma de rangos = 6,45 Valor crítico = 9.95 Prob = 0.060458 (NS)

- Ho: Tratamiento 1 y Tratamiento 3

Diferencia en la suma de rangos = 20.36 Valor crítico = 10,17 Prob = 0.000001 (S)

- Ho: Tratamiento 2 y Tratamiento 3

Diferencia en la suma de rangos = 13,92 Valor crítico = 9.95 Prob = 0.000407 (S)

Apéndice 5

La prueba Kruskal-Wallis Prueba de rangos en igualdad de poblaciones en la semana 20

Grupos	N de cerdos	Suma de rangos	Promedio de rangos
1	11	231	21
2	12	298	24.83
3	11	66	6

- Chi-cuadrado (sin corregir por lazos) = 22.536 con 2 df ($p = 0,00010$)
- Chi-cuadrado (corregido por lazos) = 22.536 con 2 df ($p = 0,00010$)

Comparaciones múltiples entre los grupos (p-valor de significación ajustado es 0,008333)

- Ho: Tratamiento 1 y Tratamiento 2

Diferencia en la suma de rangos = 3,83 Valor crítico = 9.95 Prob = 0.178217 (NS)

- Ho: Tratamiento 1 y Tratamiento 3

Diferencia en la suma de rangos = 15,00 Valor crítico = 10,17 Prob = 0.000206 (S)

- Ho: Tratamiento 2 y Tratamiento 3

Diferencia en la suma de rangos = 18.83 Valor crítico = 9.95 Prob = 0.000003 (S)